

Aus der Klinik für Nuklearmedizin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Markus Luster

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

***Optimierung der Lutetium-177 DOTATOC Synthese und Untersuchung des
peptidabhängigen Uptakes im Hinblick auf die Peptid-Rezeptor-
Radionuklidtherapie von Neuroendokrinen Tumoren im Zellversuch mit
AR42J Zellen***

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
Naturwissenschaften

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Sebastian Alfons Fellingner (geb. Krämer)
aus
Saarlouis

Marburg, 2018

angenommen vom Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg
am: 26.02.2018 (Tag der Disputation)

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. H. Schäfer
Referent: Prof. Dr. H. Jungclas
1. Korreferent: Prof. Dr. F. Kraus

Originaldokument gespeichert auf dem Publikationsserver der
Philipps-Universität Marburg
<http://archiv.ub.uni-marburg.de>



Dieses Werk bzw. Inhalt steht unter einer
Creative Commons
Namensnennung -nicht kommerziell-
Weitergabe unter gleichen Bedingungen
4.0 International Lizenz.

Die vollständige Lizenz finden Sie unter:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.de>

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Abkürzungsverzeichnis	3
2.2	Neuroendokrine Tumoren	6
2.2.1	Allgemeines	6
2.2.2	Radionuklididiagnostik und -therapie neuroendokriner Tumoren	7
2.2.3	Probleme der Standard Radionuklidtherapie	8
2.2.4	Wahl der verschiedenen Somatostatinanaloga	9
2.3	Methodik.....	12
2.3.1	Die AR42J-Zelllinie	12
2.3.2	Verwendete Materialien	12
2.3.3	Züchten der Zellen.....	13
2.3.4	Passagieren der Zellen.....	13
2.3.5	Kryokonservierung der Zellen.....	14
2.4	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	14
2.4.1	Aufbau einer HPLC Anlage.....	15
2.4.2	Funktionsweise einer HPLC	15
2.4.3	Beschreibung des verwendeten HPLC-Systems	21
2.5	Der Gammacounter.....	21
2.5.1	Verwendetes System.....	21
2.5.2	Aufbau und Funktionsweise.....	21
2.6	Die Auswertung planarer Ganzkörperszintigrafien anhand der Krenning-Skala	23
2.7	Ziel dieser Arbeit	24
3	Ergebnisse	27

3.1	Verwendete Materialien.....	27
3.2	Die Lu-177 DOTATOC Synthese	27
3.3	Bestimmung des peptidabhängigen Uptakes	31
3.3.1	Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC	33
3.3.2	Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC.....	41
3.3.3	Vergleich beider Versuchslinien.....	47
3.4	Auswertung der planaren Ganzkörperszintigrafien	51
3.5	Diskussion.....	54
4	Ausblick.....	59
5	Literaturverzeichnis.....	62
6	Anhang	72
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	72
6.2	Tabellenverzeichnis.....	75
6.3	Verzeichnis der akademischen Lehrer	76
6.4	Danksagung	77

1 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die radiochemische Synthese von Lu-177 DOTATOC optimiert und der veränderte Uptake an AR42J-Zellen durch die geänderte Peptidkonzentration untersucht.

Ausgehend von einer Lu-177 DOTATOC-Synthese mit 8 GBq Lu-177, welche 200 µg an DOTATOC verwendet hat und in einem Natriumascorbat / Ascorbinsäurepuffer durchgeführt wurde, konnte die Synthese dahingehend verbessert werden, dass fortan nur noch 20 µg Peptid für die Zubereitung benötigt werden. Außerdem wird die Synthese nun in einem Natriumacetatpuffer durchgeführt wird. Bei allen folgenden Herstellungen konnte so eine Ausbeute von 100% erreicht werden.

In den in vitro-Versuchen wurde der Uptake von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC an AR42J-Zellen bei verschiedenen Peptidkonzentrationen untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme von der Konzentration des eingesetzten Peptides abhängt. Wird für die gleiche Aktivität weniger Peptid eingesetzt, so steigt im Mittel der Uptake an den Zellen. Dies gilt sowohl für die Versuchsreihe mit Lu-177 DOTATOC, als auch für die Versuchsreihe mit Cu-64 DOTATOC. Das Uptakeverhalten erinnert stark an die Adsorptionsisotherme von Langmuir.

In vivo, also im Patienten, zeigt die visuelle Auswertung der planaren Ganzkörperszintigrafien anhand der Krenning-Skala zeigten Unterschiede der Aufnahme in den Nieren oder Metastasen. Jedoch zeigt sich auch keine Verschlechterung der Aufnahme, was die Synthese des Lu-177 DOTATOC, durch den geringeren Peptideinsatz, ressourcenschonender macht.

In the present work, the radiochemical synthesis of Lu-177 DOTATOC has been optimized and altered uptake by the modified peptide concentration has been tested at AR42J cells.

Starting from a Lu-177 DOTATOC synthesis with 8 GBq Lu-177, which has used 200 µg DOTATOC in a sodium ascorbate / ascorbic acid buffer, the preparation has been optimized, thus from now on only 20 µg peptide are required. Furthermore the synthesis will be carried out in a sodium acetate buffer. In all subsequent syntheses yields of 100% have been achieved.

In the experiments, the cell uptake of Lu-177 DOTATOC and Cu-64 DOTATOC to AR42J cells at different peptide concentrations was analyzed. It has been shown, that the uptake depends on the concentration of the peptide used. If less peptide is used for the same activity, the mean uptake increases. This applies both to the test series with Lu-177 DOTATOC, and for the series of experiments with Cu-64 DOTATOC. The uptake behavior resembles the adsorption isotherm of Langmuir.

The evaluation of the planar whole body scintigraphies on the Krenning scale showed no differences in the uptake in the kidneys or metastases. However, they also showed no decrease in the uptake, which tenders the synthesis of Lu-177 DOTATOC more cost effective by the lower peptide use.

2 Einleitung

2.1 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius	
A	Aktivität	$[A] = \text{Bq} = \text{s}^{-1}$
A ₀ Wert	Bezugsaktivität zu einem bestimmten Zeitpunkt, bzw. einer bestimmten Menge	
Å	Angström, eine Längeneinheit	$1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m}$
A/D	Analog/Digital	
Bi-213	Bismut mit der Masse 213, ein Radionuklid	
Bq	Becquerel	
bzw.	beziehungsweise	
c. a.	Träger zugesetzt	
CO ₂	Kohlenstoffdioxid	
Cu	Kupfer	
Cu-64	Kupfer mit der Masse 64, ein Radionuklid	
DC	Dünnschichtchromatographie	
λ	Zerfallskonstante	$[\lambda] = \text{s}^{-1}$
DNS	Desoxyribonukleinsäure	
DOTA	Starker Komplexbildner für zwei- und dreiwertige Metallkationen	
	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure	
DOTANOC	Somatostatinanalogon mit dem Komplexbildner DOTA	
DOTATATE	Somatostatinanalogon mit dem Komplexbildner DOTA	
DOTANOC	Somatostatinanalogon mit dem Komplexbildner DOTA	
DMSO	Dimethylsulfoxid	
DTPA	Ein Komplexbildner, Diethylentriaminpentaessigsäure	
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	
F	Fluor	
F-18	Fluor mit der Masse 18, ein Radionuklid	
FCS	Fötales Kälberserum	
FLT	Fluor-3'-Deoxy-3'-L-Fluorthymidin	
GBq	Gigabecquerel	

GC	Gaschromatographie	
h	Stunden	
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	
IC ₅₀	Inhibierungskonzentration; Konzentration, bei der der Rezeptor zu 50% inhibiert wird	
In	Indium	
In-111	Indium mit der Masse 111, ein Radionuklid	
LET	Linearer Energie Transfer	
Lu	Lutetium	
Lu-176	Lutetium mit der Masse 176, ein primordiales Nuklid	
Lu-177	Lutetium mit der Masse 177, ein Radionuklid	
M	Molarität	$[M] = \frac{mol}{l}$
mAbs	Miliabsorptionseinheiten, eine Festlegung zur Bestimmung von Peakflächen	
MBq	Megabecquerel	
µg	Mikrogramm	
mg	Milligramm	
min	Minuten	
µl	Mikroliter	
ml	Milliliter	
mm	Milimeter	
µm	Mikrometer	
µmol	Mikromol	
n	Stoffmenge	$[n] = mol$
N	Teilchenanzahl	
N _A	Avogadro Konstante	
	$N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$	
n. c. a.	kein Träger zugesetzt	
NEC	Neuroendokrine Karzinome	
NET	Neuroendokrine Tumore	
ng	Nanogramm	
NaI	Natriumiodid	
NaI(Tl)	Mit Thallium dotierter Natriumiodidkristall	
Ni-64	Nickel mit der Masse 64, ein stabiles Nuklid	

nM	Nanomolar
nm	Nanometer
NODAGA	Starker Komplexbildner für zwei- und dreiwertige Metallkationen 1,4,7-Triazacyclononan-1-glutarsäure-4,7-diessigsäure
NODAGANOC	Somatostatinanalogon mit dem Komplexbildner NODAGA
NP HPLC	Normalphasenchromatographie
PBS	Phosphatpuffer
pH	pH-Wert, ein Maß für die Acidität einer Lösung
pmol	Pikomol
Po-213	Polonium mit der Masse 213, ein Radionuklid
PRRT	Peptid-Rezeptor-Radionuklidtherapie
PS	Polystyrol
RNS	Ribonukleinsäure
RP HPLC	Umkehrphasenchromatographie
RP18	Umkehrphasenchromatographie, bei der das Kieselgel mit einem 18 Kohlenstoffatomen langem Alkylrest funktionalisiert wurde
rpm	Umdrehungen pro Minute (der Zentrifuge)
RPMI 1640	Spezielles Medium zur Zucht von Zellen
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SST	Somatostatin
SSTR	Somatostatinrezeptor
$T_{1/2}$	Halbwertszeit
TK ₁	Thymidinkinase 1
TI	Thallium
U	Unit = Einheit
UV	Ultraviolett
Vis	Visuelles Spektrum
WHO	Weltgesundheitsorganisation
Y	Yttrium
Y-90	Yttrium mit der Masse 90, ein Radionuklid
Yb-176	Ytterbium mit der Masse 176, ein stabiles Nuklid
[x]	Einheit von x

2.2 Neuroendokrine Tumoren

2.2.1 Allgemeines

Neuroendokrine Tumoren (NET) sind eine seltene Tumorerkrankung, welche in den letzten Jahren bis Jahrzehnten aber an Häufigkeit zugenommen haben. Die durchschnittliche Häufigkeit liegt bei etwa 5,3 Diagnosen pro Jahr auf 100.000 Einwohner. (Rinke & Arnold, 2014) Im Jahr 1973 lag diese Zahl noch bei 1,1 Diagnosen auf 100.000 Einwohner und Jahr. NETs sind in allen Altersgruppen ab 5 Jahren zu finden, wobei die Anzahl an Erkrankungen, wie bei vielen Tumorarten, mit dem Alter zunimmt. (Bodei, Mueller-Brand, Pavel, Baum, Hörsch, & Zankun, 2013)

Für die Nuklearmedizin, also für eine Radiopeptiddiagnostik und -therapie, spielen die neuroendokrinen Tumoren des Differenzierungsgrades G1 und G2, nach WHO Klassifikation aus dem Jahr 2010, eine Rolle, da diese gut differenziert sind und den Somatostatinrezeptor des Subtyps 2 exprimieren. Somatostatinanaloga, wie DOTATOC, binden spezifisch an diesen Rezeptor und somit können radioaktiv markierte Somatostatinanaloga zur Diagnostik und auch zur Therapie eingesetzt werden. Neuroendokrine Tumore des Differenzierungsgrades G3 sind hoch proliferativ und schlecht differenziert. Diese Tumoren eignen sich in der Regel nicht mehr für eine PRRT. Die Nomenklatur der Tumore gibt vor, dass nur hochdifferenzierte Tumore, also diejenigen nach WHO Klassifikation des Differenzierungsgrades G1 und G2 als neuroendokrine Tumore bezeichnet werden. Schlecht differenzierte Tumore, nach WHO Klassifikation des Differenzierungsgrades G3, werden als neuroendokrine Karzinome NEC bezeichnet. (Rinke & Arnold, 2014) (Bodei, Mueller-Brand, Pavel, Baum, Hörsch, & Zankun, 2013)

Zur Diagnostik hoch proliferativer Tumore, nicht ausschließlich neuroendokriner Tumore, könnte sich F-18-Fluor-3'-Deoxy-3'-L-Fluorthymidin (F-18-FLT) als hilfreich erweisen. F-18-FLT ist ein Thymidin-Analogon, welches in der Zelle durch die Thymidinkinase 1 (TK₁) phosphoryliert, aber nicht mehr in die DNS aufgenommen wird. Da die DNS-Synthesen in schnellwachsenden Tumoren deutlich schneller ablaufen, als in gesunden Zellen, wird folglich mehr F-18-FLT

in diesen Zellen aufgenommen. (Been, Suurmeijer, Cobben, Jager, Hoekstra, & Elsinga, 2004) (Chen, et al., 2005)

2.2.2 Radionukliddiagnostik und -therapie neuroendokriner Tumoren

Die nuklearmedizinische Diagnostik neuroendokriner Tumoren verbreitete sich vor allem nach der Zulassung von [In-111-DTPA⁰]-octreotid, welches unter dem Handelsnamen Octreoscan® kommerziell vertrieben wird. Ebenfalls in den 1990er Jahren startete die Therapie neuroendokriner Tumoren mit [In-111-DTPA⁰]-octreotid, welches in Aktivitäten von bis zu 20 GBq und mehr appliziert wurde. Im gesamten Therapiezyklus konnten so bis zu 100 GBq an kumulierter Aktivität zusammenkommen. (Kwekkeboom, et al., 2010) (Bodei, Mueller-Brand, Pavel, Baum, Hörsch, & Zankun, 2013)

Die Therapieoption mit In-111 wurde jedoch schnell von der Möglichkeit der Therapie mit Y-90 DOTATOC abgelöst. Hierbei wurde nicht nur das Radionuklid, sondern auch der Chelator, sowie die funktionelle Gruppe geändert. Die erste Therapie mit Y-90 DOTATOC wurde 1996 in Basel durchgeführt. Später kam auch die Option der Therapie mit Lu-177 DOTATOC hinzu. Der Vorteil von Lu-177 liegt in der geringeren Beta-Energie, die Betateilchen besitzen somit eine geringere Eindringtiefe in umliegendes Gewebe, was auch die Nieren- und Knochenmarkstoxizität herabsetzt. Y-90 kann allerdings noch bei großen, gut speichernden Tumoren verwendet werden, denn durch die hochenergetische Betastrahlung wird viel Dosis im Tumor deponiert. Lu-177 ist im Moment das Radionuklid der Wahl für eine PRRT. Bei allen Therapien ist die Niere oft das dosislimitierende Organ, daher muss vor einer Therapie die Funktionsfähigkeit der Niere, zum Beispiel über eine Szintigraphie und eine Sammelurinmessung überprüft werden. Während der Therapie muss eine Nierenschutzinfusion mit einer Lysin/Arginin-Lösung durchgeführt werden, dies hilft die Nephrotoxizität zu verringern. Der Erfolg einer Therapie hängt unter anderem auch von dem Rezeptorbesatz der Läsionen ab. (Bodei, Mueller-Brand, Pavel, Baum, Hörsch, & Zankun, 2013) (Rinke & Arnold, 2014) (Kwekkeboom, et al., 2010)

Besitzt ein Tumor viele sst2-Rezeptoren, kann er folglich auch mehr Peptid speichern, was wiederum die Dosis erhöht, wenn viel des aufgenommenen Peptids radioaktiv markiert ist.

2.2.3 Probleme der Standard Radionuklidtherapie

Es ist etabliert, dass sowohl bei der Diagnostik, als auch bei der Therapie neuroendokriner Tumoren, Standardmengen an Peptid und Radioaktivität verwendet werden. So lässt sich auch weiterhin noch eine eingesetzte Menge von 7,4 GBq Lu-177 in der Literatur finden. (Bodei, Mueller-Brand, Pavel, Baum, Hörsch, & Zankun, 2013) (Rinke & Arnold, 2014) Aber auch hinsichtlich der eingesetzten Peptidmenge gibt es keine einheitliche Vorgehensweise. Allerdings können auch schon Arbeiten gefunden werden, die zeigen, dass es einen Einfluss auf die Wirkung hat, wenn unterschiedliche Peptidmengen eingesetzt werden. (Velikyan, et al., 2010) (Kletting, et al., 2012) Jedoch ist jeder Patient einzigartig, genau wie jeder Tumor einzigartig ist. Es ist unmöglich ohne genauere Untersuchung festzustellen, ob 7,4 GBq Lu-177 für eine Therapie zu wenig, ausreichend und vertretbar oder aber schon überdosiert sind. Der Aktivitätsermittlung zur Bestimmung der Zieldosis, bei gleichzeitigem Augenmerk auf die kritischen Organe muss mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden. Bei einem stark speichernden Tumor könnte durchaus mehr Aktivität appliziert werden, ohne dass dadurch die Niere stärker belastet werden würde, da durch die erhöhte Aufnahme des Somatostatinanalogons im Tumor, weniger Aktivität in die Niere gelangen könnte. Aus diesem Grund sollte also überlegt werden, ob man nicht vor dem Start der Radionuklidtherapie, zumindest eine partielle Dosimetrie durchführt, um die Aktivitätsverteilung im Körper nachvollziehen zu können und anhand dieser Daten die zu applizierende Aktivität bestimmt. Es könnte durchaus sein, dass so bei einigen Patienten, eine größere Dosis in den Läsionen deponiert werden könnte, als es mit der Standardaktivität der Fall gewesen wäre. Setzt man dies nun noch in Zusammenhang mit der Peptidmenge, könnten sich deutliche Unterschiede in der Biodistribution und somit der Dosis im Körper ergeben.

2.2.4 Wahl der verschiedenen Somatostatinanaloga

Damit eine Diagnostik, bzw. eine Therapie von neuroendokrinen Tumoren in Betracht gezogen werden kann, muss das verwendete Peptid eine hohe Affinität zu den Rezeptoren aufweisen, welche zur Diagnostik, bzw. zur Therapie herangezogen werden. Für die neuroendokrinen Tumoren ist das der Somatostatinrezeptor des Subtyps 2. (Reubi, Waser, Schaer, & Laissue, 2001) Einige Tumoren exprimieren auch den Somatostatinrezeptor des Subtyps 1, jedoch gibt es bis heute kein Peptid, welches mit Radioaktivität markierbar ist und an diesen Rezeptor bindet. (Reubi, Waser, Schaer, & Laissue, 2001) (Kwekkeboom, et al., 2010) Wenige Tumoren bilden auch den Somatostatinrezeptor des Subtyps 5 aus. Einige sst2-positiven Tumoren bilden gleichzeitig auch den sst5-Rezeptor aus, aber auch Tumore mit sst3-Rezeptoren sind bekannt. (Reubi, Waser, Schaer, & Laissue, 2001) (Rinke & Arnold, 2014) Erforderlich zur Diagnostik und Therapie der Tumoren wäre ein Peptid, welches sowohl eine hohe Affinität, am besten zu allen 5 Rezeptoren aufweist, als auch mit radioaktiven Substanzen markierbar ist. Das natürliche Somatostatin 28 besitzt eine sehr gute Affinität zu allen Rezeptorsubtypen, allerdings hat es eine in vivo Halbwertszeit von nur wenigen Minuten, wodurch es unmöglich ist, dieses Peptid zur Diagnostik oder gar zur Therapie zu verwenden. (Bogdanov Jr. & Licha, 2005) (Rinke & Arnold, 2014) In Abbildung 1 sind die heute gebräuchlichsten Peptide zur Darstellung der Somatostatinrezeptoren, insbesondere des Subtyps 2 gezeigt.

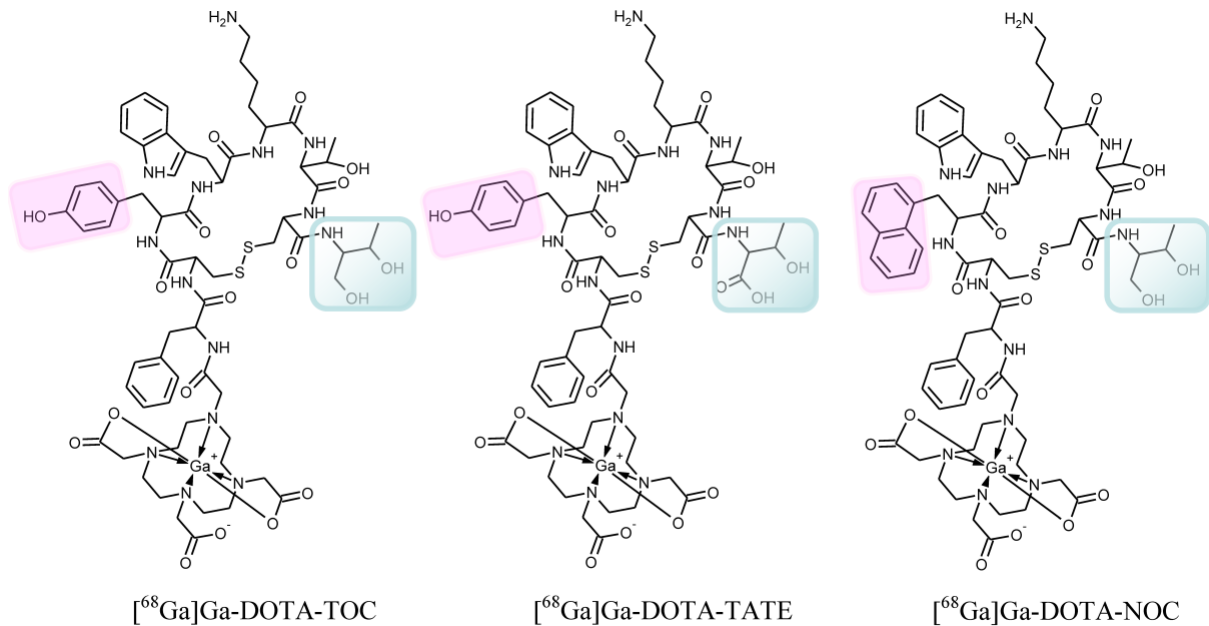


Abbildung 1: Strukturen und Unterschiede der gebräuchlichsten Somatostatinanaloga, hier markiert mit Gallium. (Velikyan, 2014)

Nun stellt sich die Frage, welches der Peptide zur Diagnostik und Therapie eingesetzt werden sollte. Der IC_{50} Wert von Y-DOTATATE zu den sst_2 -Rezeptoren beträgt $1,6 \pm 0,4$ nM, wohingegen der IC_{50} Wert von Y-DOTATOC zu den sst_2 Rezeptoren $11 \pm 1,7$ nM beträgt. (Bogdanov Jr. & Licha, 2005) (Reubi, Waser, Schaer, & Laissue, 2001) Rein von den in vitro-Werten würde man zu DOTATATE tendieren, jedoch zeigen Arbeiten (Poeppel, et al., 2011), dass der Uptake von DOTATOC in den Metastasen höher ist, als der Uptake von DOTATATE. Eine Erklärung könnte hier die deutlich höhere Affinität von DOTATOC zu den sst_3 und sst_5 -Rezeptoren sein (SSTR3 389 ± 135 nM, SSTR5 114 ± 29 nM für Y-DOTATOC und SSTR3 > 1000 nM, SSTR5 185 ± 50 nM für Y-DOTATATE). (Bogdanov Jr. & Licha, 2005) (Reubi, Waser, Schaer, & Laissue, 2001) Denn einige Tumoren bilden neben dem sst_2 -Rezeptor, zumindest im geringen Maße, auch die Somatostatinrezeptoren der Subtypen 3 und 5 aus.

In Tumoren mit wenig sst_5 -Rezeptoren, aber deutlich überexprimierten sst_2 -Rezeptoren zeigt jedoch DOTATATE einen höheren Tumoruptake als DOTATOC. Jedoch ist auch der Nierenuptake für DOTATATE höher. (Wehrmann, Senfleben, Zachert, Müller, & Baum, 2007) (Esser, et al., 2006) Letztlich kann man sagen, dass es keinen signifikanten Unterschied in der

Verwendung von DOTATOC und DOTATATE gibt. (Forrer, et al., 2004) Es ist wohl eine Frage der eigenen Erfahrung, für welches der beiden Peptide man sich entscheidet.

Ein weiteres verfügbares Somatostatinanalogon ist DOTANOC. Dieses besitzt in vitro sehr gute Affinitäten zu den Somatostatinrezeptorsubtypen 2; 3 und 5 und relativ gute Affinität zu dem Somatostatinrezeptorsubtyp 4. Die IC_{50} Werte betragen für In-DOTANOC-[1-NaI³] am SSTR2 $2,9 \pm 0,1$ nM, am SSTR3 8 ± 2 nM, am SSTR4 227 ± 18 nM, am SSTR5 $11,2 \pm 3,5$ nM. (Bogdanov Jr. & Licha, 2005) Auch eine Arbeit von Damian Wild bestätigt die besseren Diagnostikeigenschaften von DOTANOC. Es zeigt sich, dass mit Ga-68 DOTANOC mehr Metastasen, als mit Ga-68 DOTATATE gefunden werden und dass das Tumor zu Hintergrundverhältnis, außer in Lymphknoten und im Knochen, mindestens gleich, in vielen Fällen aber höher ist. (Wild, et al., 2013)

Eine in vitro-Studie zeigt, dass DOTANOC einen höheren Uptake im Nierengewebe hat als DOTATATE, daneben wird jedoch auch dargelegt, dass diese Ergebnisse in vivo nicht reproduzierbar sind und der Nierenuptake bei DOTANOC sogar geringer ist. (Cihlo, Melicharová, Petrik, Laznickova, & Laznicek, 2008) Eine weitere Arbeit bestätigt diese Aussage, dass die Lu-177 markierten Peptide DOTATATE und DOTANOC, mit Ausnahme der Ganzkörperdosis, keine signifikanten Unterschiede in den Dosen aufweisen. In einer vergleichenden Dosimetrie waren die Dosen für normales Gewebe, die Nieren, die Leber und die Metastasen vergleichbar gewesen. (Wehrmann, Senftleben, Zachert, Müller, & Baum, 2007)

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es keine einschlägige Meinung zur Wahl des „richtigen“ Somatostatinanalogons gibt. Alle drei hier diskutierten Peptide haben Vor- und Nachteile.

Sinnvoll wäre es tumorspezifisch das, für diesen Patienten, geeignete Peptid zu verwenden. Bei Patienten, bei denen ausschließlich sst2-Rezeptoren überexprimiert werden, wäre DOTATATE vorzuziehen. Bei einem Tumor, welcher sowohl SSTR2 und SSTR5 ausbildet, erzielt DOTATOC bessere Ergebnisse als DOTATATE. Bildet ein Tumor in einem geringeren Maße sst2-Rezeptoren aus, besitzt aber dafür sst3-5 Rezeptoren, kann DOTANOC das beste Peptid für diese Fragestellung sein.

Theoretisch wäre anhand der Diagnose des Patienten und der Literatur zu entscheiden, welcher Tumor im Allgemeinen welche Rezeptoren ausbildet und welches Peptid man für den jeweiligen Fall verwenden möchte, was aber zur Folge haben könnte, dass manche Metastasen oder Tumore nicht, oder nur schlecht diagnostiziert und therapiert werden könnten.

2.3 Methodik

2.3.1 Die AR42J-Zelllinie

Für die hier durchgeführten Versuche wurde die AR42J-Zelllinie verwendet. Diese Zelllinie, welche aus der Bauchspeicheldrüse einer Ratte stammt, exprimiert den, für diese Arbeit wichtigen, Somatostatinrezeptor des Subtyps 2. (Gonzalez, Santofimia-Castaño, & Salido, 2011) (Topp, 2008)

2.3.2 Verwendete Materialien

Fötales Kälberserum (FCS)	Biochrom
Penicillin/Streptomycin	Biochrom
Phosphatpuffer (PBS)	Biochrom
RPMI 1640 Medium mit Glutamin	Biochrom
Trypsin/EDTA-Lösung	Biochrom
6-Loch-Platten	Sarstedt
Pipetten 2-50 ml	Sarstedt
Zentrifugenröhrchen	Sarstedt
Zellkulturflaschen Standard	Sarstedt
AR42J-Zelllinie	aus unserem Lagerbestand

Das Zellmedium wurde aus einer vollen Flasche RPMI 1640, unter Zusatz von 55 ml FCS und 5,5 ml Penicillin/Streptomycin, hergestellt, sodass die Endkonzentration von FCS 10 % und von Penicillin/Streptomycin $100 \frac{U}{ml}$ betrug.

2.3.3 Züchten der Zellen

Die Zellen wurden in flüssigem Stickstoff gelagert und in das Zellkulturlabor überführt. Das Kryovial wurde 5 Minuten im Brutschrank inkubiert und anschließend in ein Zentrifugenröhrchen mit 10 ml Medium gegeben. Das Röhrchen wurde nun 5 Minuten bei 900 rpm zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet in 10 ml frischem Medium resuspendiert. Die Zellen wurden nun in eine kleine Gewebekulturflasche gegeben und im Brutschrank inkubiert. Das Wachstum der Zellen wurde täglich unter dem Mikroskop beurteilt. Nach einigen Tagen konnte ein deutliches Wachstum beobachtet werden, sodass die Zellen in einer großen Gewebekulturflasche mit 30 ml Medium ausgesät wurden.

Die Zellen wurden nach der Aussaat etwa 7-10 Tage in der großen Gewebekulturflasche in 30 ml RPMI 1640 Medium mit 10 % FCS und $100 \frac{U}{ml}$ Penicillin/Streptomycin gezüchtet. Das Medium wurde nach einer Woche gewechselt. Nach 7-10 Tagen Wachstum wurden etwa 90% der Zellen für einen wissenschaftlichen Versuch und der Rest der Zellen für eine neue Aussaat verwendet. Die Zellen wurden in einer Atmosphäre von 5 % CO₂ gezüchtet.

2.3.4 Passagieren der Zellen

Da die Zellen ständiger Proliferation unterliegen, müssen diese regelmäßig ausgedünnt werden. Dazu wurde das Medium in der Flasche abgesaugt und die Zellen mit 5 ml PBS gewaschen. Die Waschlösung wurde ebenfalls verworfen. Die Zellen wurden nun mit 2 ml Trypsin/EDTA-Lösung beimpft und die Zellkulturflasche 3 Minuten inkubiert. Anschließend konnten die Zellen mit

Hilfe von 10 ml Medium und dem Druck eines Pipettenstrahls vom Boden gelöst werden. Die Zellsuspension wurde in ein Zentrifugenröhrchen gegeben und bei 900 rpm 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet mit 10 ml frischem Medium resuspendiert. Die Zellen konnten nun in der gewünschten Verdünnung wieder neu ausgesät werden.

2.3.5 Kryokonservierung der Zellen

Die Zellen wurden zur Bevorratung und zur Vorbeugung von Kontaminationen, zur Konservierung eingefroren. Dafür wurde das Medium einer Flasche abgesaugt, der Zellrasen mit 5 ml PBS gewaschen und die Waschlösung ebenfalls abgesaugt. Es wurden 2 ml Trypsin/EDTA-Lösung auf den Zellrasen gegeben und die Zellkulturfalsche 3 Minuten inkubiert. Mit 10 ml Medium und dem Druck des Pipettenstrahls konnten die Zellen vom Boden der Flasche gelöst werden. Sie wurden in ein Zentrifugenröhrchen überführt und 5 Minuten bei 900 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Zellpellet in 1,5 ml Einfriermedium (FCS mit einem Anteil von 5 % DMSO) aufgenommen und in ein Kryovial überführt. Das Vial wurde in einen speziellen Einfriercontainer (zur Temperaturabsenkung von $1 \frac{^{\circ}\text{C}}{\text{min}}$ wurde Isopropanol verwendet) gegeben und im -80°C Tiefkühlschrank über Nacht eingefroren. Am Morgen wurde das Vial in eine Kryobox gegeben und weiterhin bei -80°C gelagert.

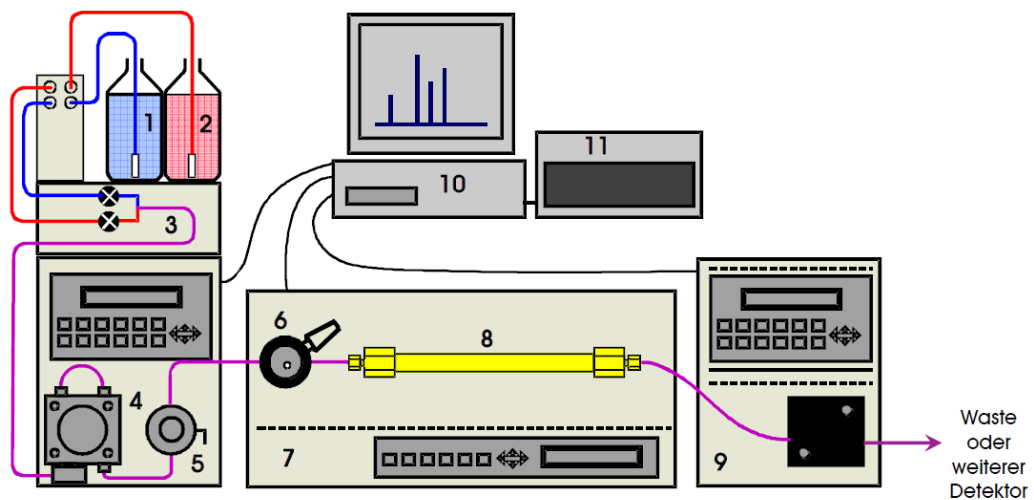
2.4 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Bei der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) handelt es sich um ein chromatographisches Verfahren, welches verschiedene Stoffe auf Grund ihrer unterschiedlichen Lipophilie, bzw. unterschiedlicher Struktur auftrennt. Mit der HPLC sind Substanzen nicht nur identifizierbar sondern auch quantifizierbar.

2.4.1 Aufbau einer HPLC Anlage

Der Grundaufbau einer HPLC besteht aus einem Lösungsmitteldegaser, einer Pumpe (hier kann man zwischen Hochdruck- und Niederdruckgradientenpumpe unterscheiden), dem Injektionsventil, der Trennsäule und dem Detektor oder den Detektoren.

In Abbildung 2 ist der generelle Aufbau eines HPLC-Systems gezeigt. Als weiterer Detektor wurde bei dem, in dieser Arbeit verwendeten HPLC-Systems, noch ein Radioaktivitätsdetektor eingesetzt.



1,2: Laufmittel-Reservoirs; 3: Laufmittellentgasung und Gradientenmischung;
4: Pumpe(n) mit 5: Druckaufnehmer; 6: Injektionsventil, 7: Säulenthermostat;
8: Trennsäule; 9: Detektor; 10, 11: Auswertesystem (A/D-Wandler mit Controller)

Abbildung 2: Aufbau eines HPLC Systems. (Martin, 2008)

2.4.2 Funktionsweise einer HPLC

Die Trennung der Analyten erfolgt in der Trennsäule der HPLC. Die Säule ist mit einer stationären Phase gepackt, hier unterscheidet man zwischen Normalphasenchromatographie (NPC) (die Packung besteht aus einem Kieselgel), Umkehrphasenchromatographie (RPC) (die Packung besteht aus

funktionalisiertem Kieselgel, in der Mehrheit der Fälle ist das Kieselgel mit Alkanen funktionalisiert) und Größenausschlusschromatographie. Daneben gibt es noch weitere Trennarten, welche eine kleinere Rolle spielen. Die Mehrheit aller Trennungen wird mit RP-HPLC durchgeführt.

Abbildung 3 zeigt den Aufbau von Kieselgel und veranschaulicht die Struktur der stationären Phase nach der Funktionalisierung.

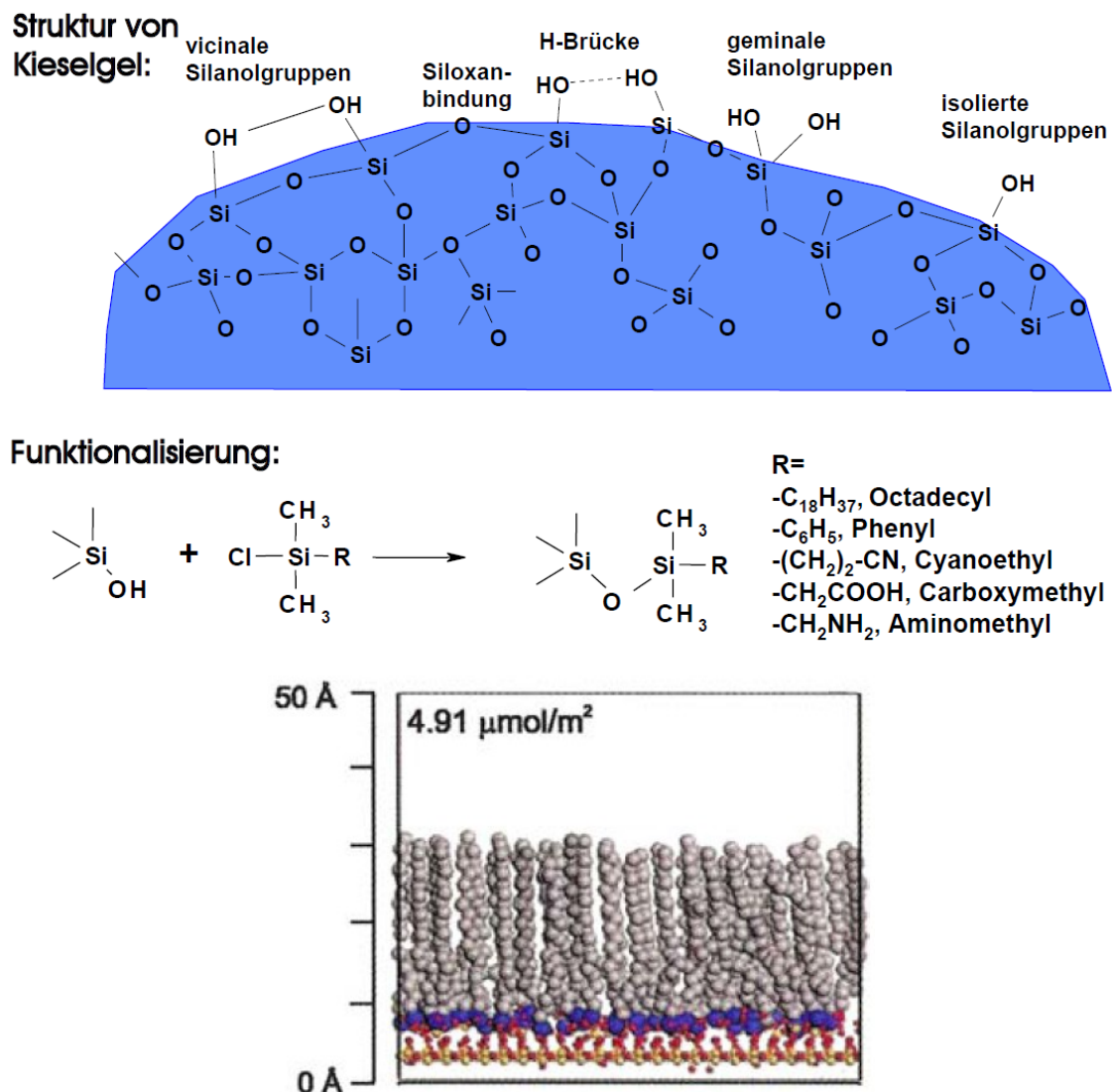


Abbildung 3: Struktur und Funktionalisierung von Kieselgel. (Martin, 2008)

In der RP-HPLC ist die stationäre Phase, je nach Funktionalisierung, sehr unpolar. Das bedeutet, dass unpolare Analyten stark an die stationäre Phase adsorbieren und daher länger für die Elution benötigen als polare Analyten. Die Elutionskraft eines Laufmittels bestimmt sich nach der Polarität der stationären Phase. Wird eine RP-Säule verwendet, dann besitzen unpolare Laufmittel (wie Hexan) eine hohe Elutionskraft, während polare Laufmittel (wie Wasser) eine sehr geringe Elutionskraft besitzen. Bei der NP-HPLC ist dies genau umgekehrt.

Durch die geringe Partikelgröße der Packung einer Trennsäule, ergibt sich eine hohe Packungsdichte und damit verbunden eine hohe Trennleistung, allerdings ergibt sich durch die dichte Packung auch ein großer Gegendruck, welcher nur von einer Hochdruckpumpe überwunden werden kann. Je nach verwendeter Säule können Gegendrücke von über 100 bar entstehen. Abbildung 4 zeigt den Anschluss einer Säule an ein HPLC-System.

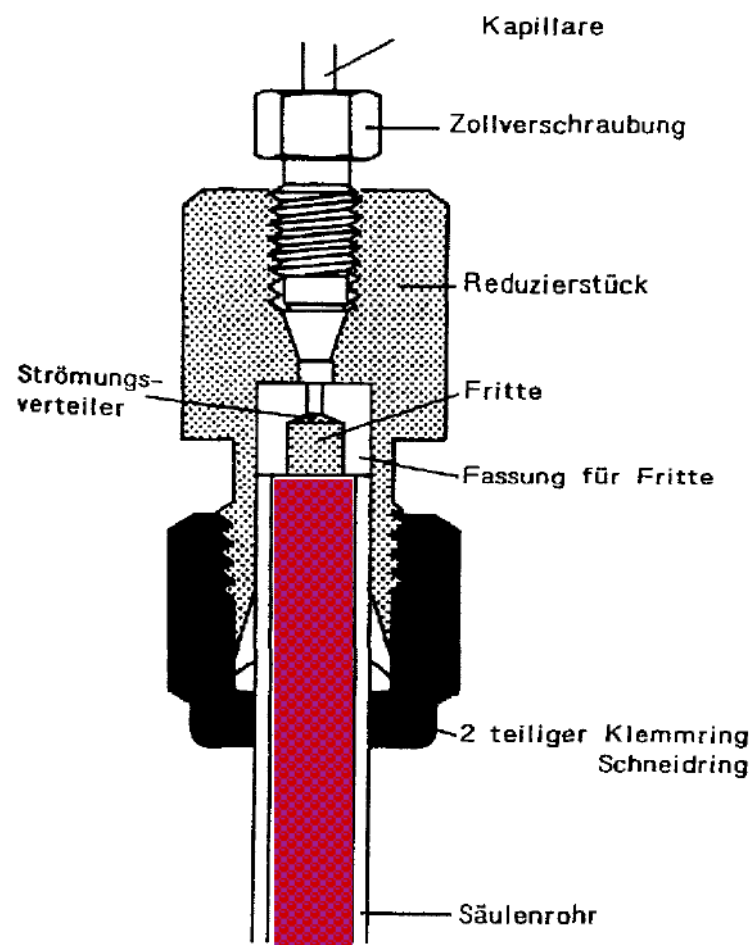


Abbildung 4: Aufbau und Anschluss einer HPLC Säule. (Martin, 2008)

Durch diese hohen Drücke in der Anlage, ist auch eine direkte Injektion des Analyten auf die Säule (wie in der GC) nicht möglich. Daher ist die Verwendung eines Injektionsventils unabdingbar. Im Injektionsventil gibt es zwei Kreisläufe, einer verbunden mit einer Probenschleife, der andere für die Verbindung der Pumpe mit der Trennsäule. Zunächst gibt man die Probe auf die Probenschleife, danach schaltet man das Ventil durch Drehung um, sodass nun der Pumpenkreislauf durch die Probenschleife auf die Säule geleitet wird. In Abbildung 5 ist der Aufbau einer Probenschleife grafisch dargestellt.

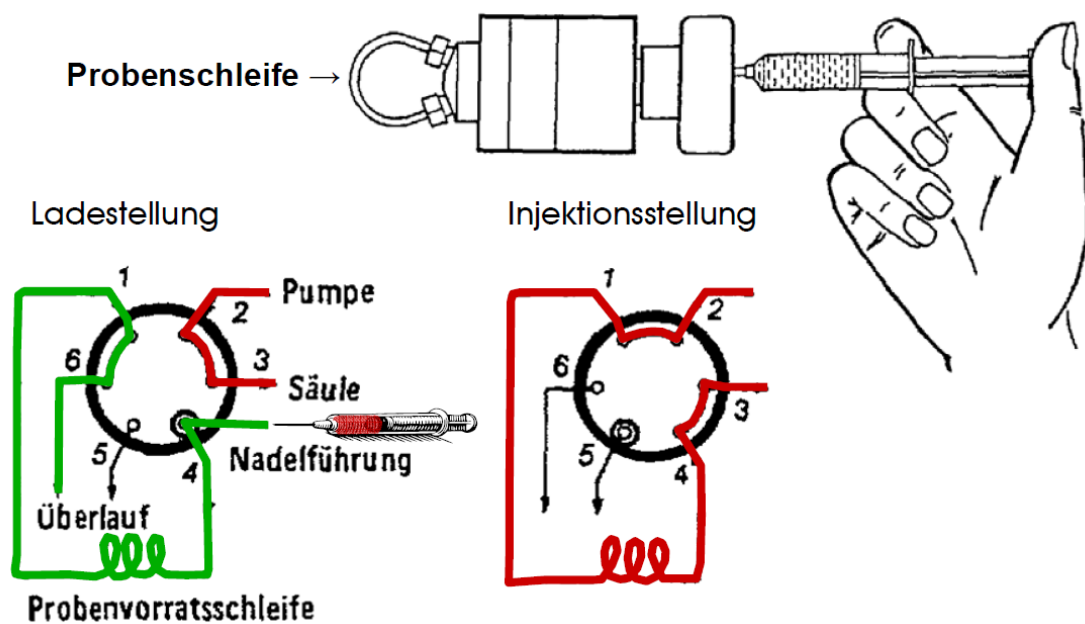


Abbildung 5: Aufbau und Funktionsweise einer Probenschleife. (Martin, 2008)

Die eigentliche Trennung der Analyten erfolgt nun auf der Trennsäule. Durch die unterschiedliche Lipophilie der Analyten adsorbieren diese mehr oder weniger stark auf der stationären Phase. Die Trennung beruht auf einem Wechselspiel zwischen Adsorption und Desorption des Analyten an der stationären Phase.

Besitzt der Analyt eine hohe Affinität zur stationären Phase, wird er aus der mobilen Phase schnell an die stationäre Phase adsorbieren. Die mobile Phase wird den Analyten wieder von der stationären Phase desorbieren und mit dem Laufmittelfluss transportieren. Da aber der Analyt eine hohe Affinität zur stationären Phase besitzt, wird dieser wieder schnell an die stationäre Phase

adsorbieren. Dieses Spiel vollzieht sich sehr oft, ein Analyt mit hoher Affinität zur stationären Phase braucht demzufolge lange um von der Trennsäule eluiert zu werden.

Handelt es sich nun um einen Analyten mit geringer Affinität zur stationären Phase, wird dieser weniger oft an die stationäre Phase adsorbieren und sich länger in der mobilen Phase aufhalten. Er wird also öfter mit dem Laufmittelfluss transportiert und wird somit folglich auch früher von der Säule eluiert. In Abbildung 6 ist ein Beispielchromatogramm gezeigt. Es handelt sich hierbei um die Trennung verschiedener Phenole auf einer RP18-Säule. Es ist zu erkennen, dass sowohl die Stellungsisomere, als auch die Phenole mit verschiedenen Substituenten sauber getrennt wurden.

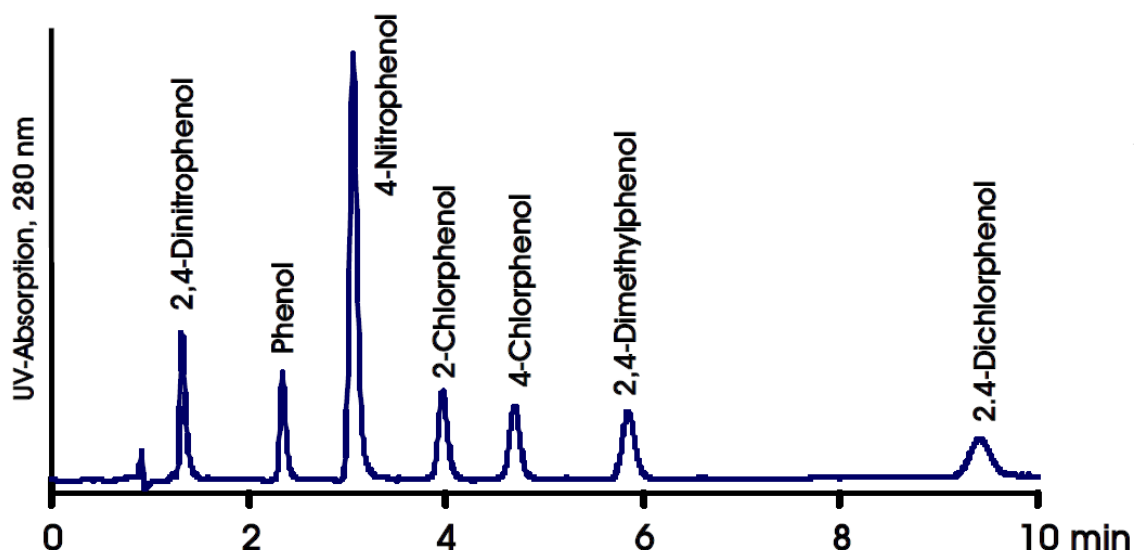


Abbildung 6: Beispielchromatogramm für die Trennung verschiedener Phenole auf einer RP18 Säule. (Martin, 2008)

Für die Fragestellung dieser Arbeit, ist die Abtrennung von freiem, also unkomplexiertem Radiometall, und Lu-177 DOTATOC, bzw. Cu-64 DOTATOC von Nöten. Es wurde eine RP18-Säule verwendet, was bedeutet, dass die stationäre Phase unpolar ist und somit polare Analyten, wie das Radiometall, kaum Retention zeigen. DOTATOC verbleibt länger auf der Säule, sodass hier das Radiometall deutlich vor dem DOTATOC von der Säule eluiert wird.

Zur Detektion der Analyten wird, wie auch hier, in der Vielzahl der eingesetzten Systeme ein UV-Vis Detektor verwendet. Er misst die Extinktion des Analyten

beim Durchlauf durch die Detektionszelle. Im Detektor ist eine Deuteriumlampe installiert, deren Licht durch einen Monochromator auf eine bestimmte Wellenlänge eingestellt werden kann. Dieses monochromatische Licht durchleuchtet die Durchflusszelle und wird von einer Photodiode aufgefangen, welche der einfallenden Lichtstärke entsprechend ein Signal ausgibt. Durchfließt nun ein Analyt die Zelle, welcher das Licht der jeweiligen Wellenlänge absorbiert, so trifft weniger Intensität auf die Diode, was zu einem Abfall des Signals führt. Dieser Abfall ist proportional zur Konzentration des Analyten, was eine quantitative Auswertung ermöglicht. Abbildung 7 zeigt den Aufbau eines UV-Vis Detektors.

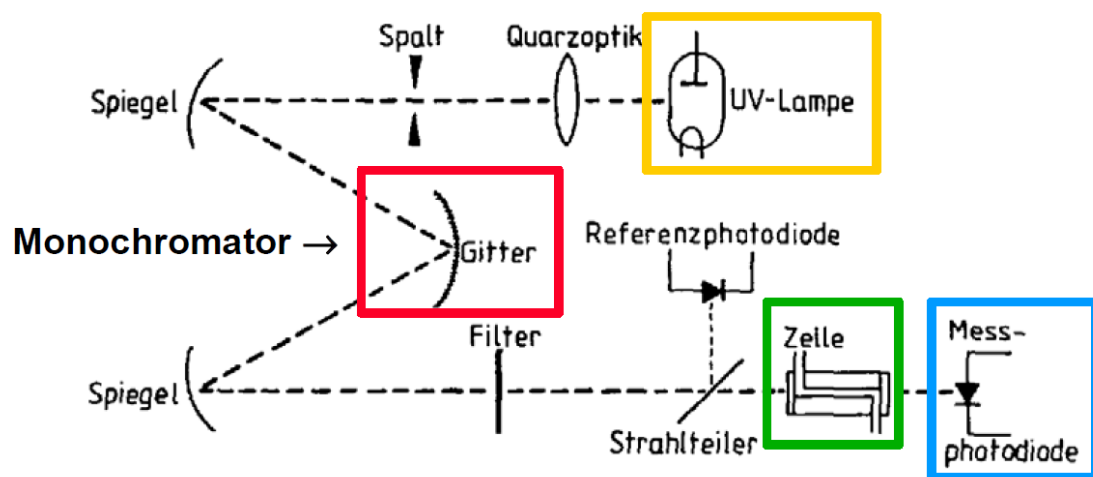


Abbildung 7: Aufbau eines UV-Vis Detektors. (Martin, 2008)

Da in dieser Arbeit mit radioaktiven Substanzen umgegangen wurde, und freies Metall unter Umständen keine UV Absorption besitzt, bzw. in solch geringen Konzentrationen vorliegt, dass eine Detektion mittel UV-Vis Detektor nicht möglich ist, wurde zusätzlich ein Radioaktivitätsdetektor verwendet.

2.4.3 Beschreibung des verwendetenes HPLC-Systems

Vakuum Degaser S7515	Sykm
Pumpe 525	Biotek Instruments
Injektionsventil 7725i	Rheodyne
UV-Vis Detektor 535	Biotek Instruments
Flow Scintillation Analyzer 500TR	Packard
Säule Nucleosil C18; 250x4,6 mm; 5 µm Partikelgröße	Macherey-Nagel

2.5 Der Gammacounter

2.5.1 Verwendetes System

Cobra II Auto-Gamma	Packard
Zählröhrchen PS	Sarstedt

2.5.2 Aufbau und Funktionsweise

Der Gammacounter besteht aus einem Natriumiodideinkristall, welcher mit Thallium(I)-Ionen dotiert ist, einer Photokathode, einem Sekundärelektronen-vervielfacher (SEV), einer Sammelanode und der Auswerteeinheit.

Der Aufbau eines NaI(Tl)-Szintillationsdetektors ist in Abbildung 8 wiedergegeben.

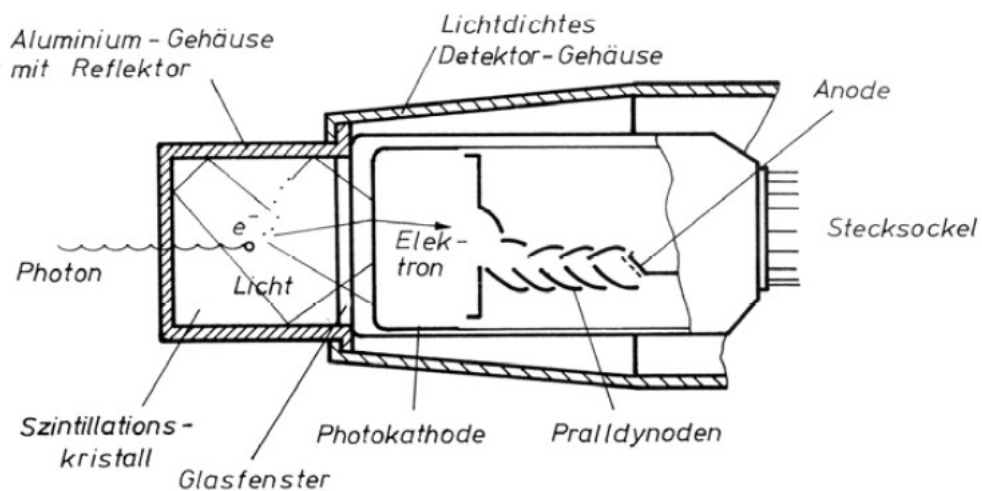


Abbildung 8: Aufbau eines NaI(Tl)-Szintillationsdetektors. (Krieger, 2013)

Die Detektion der Gammaquanten funktioniert wie folgt:

Zunächst trifft ein Gammaquant auf den NaI(Tl)-Kristall, dieses Quant erzeugt nun, seiner Energie entsprechend, eine gewisse Menge Photonen der maximalen Wellenlänge von 410 nm.

Die ausgesendeten Lichtblitze (daher der Name „Szintillationsdetektor“) treffen nun auf eine Photokathode und schlagen dort Elektronen heraus.

Die Elektronen werden zu einer Kaskade von Dynoden hin beschleunigt, in welcher sich der Strom von Dynode zu Dynode verstärkt. Im Anschluss an den SEV wird an der Sammelanode der abgezogene Strom gemessen. Dieser ist proportional zur ursprünglich eingefallenen Gammaenergie. Daher ist eine Energieauflösung mittels eines NaI(Tl)-Detektors möglich. (Krieger, 2013)

Abbildung 9: Aufbau eines SEV. zeigt den Aufbau eines SEV.

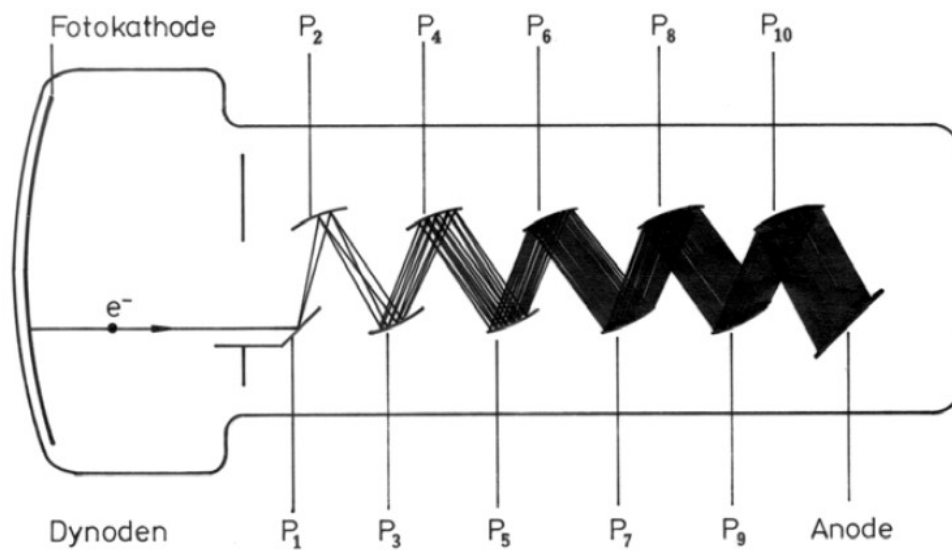


Abbildung 9: Aufbau eines SEV. (Krieger, 2013)

2.6 Die Auswertung planarer Ganzkörperszintigrafien anhand der Krenning-Skala

Um die Aufnahme des Somatostatinanalogons im Körper vergleichen zu können, kann man die so genannte Krenning-Skala verwenden.

Diese geht auf Eric Krenning zurück, welcher die Einteilung am Erasmus Medical Center in Rotterdam entwickelt hat. (Hofman, Lau, & Hicks, 2015)

Die Krenning Skala verwendet die Zahlenwerte von Null bis Vier um den Uptake im betrachteten Gewebe, im Vergleich zur Aufnahme des Somatostatinanalogons in Leber oder Milz, zu beschreiben. Dabei gilt:

- 0 = keine Aufnahme
- 1 = sehr geringe Aufnahme
- 2 = geringere oder gleichwertige Aufnahme wie Leber
- 3 = höhere Aufnahme als Leber
- 4 = höhere Aufnahme als Milz

Der Vergleich des Uptakes mit Leber und Milz eignet sich besonders, da diese beiden Organe einen sehr hohen Uptake von Somatostatinanaloga zeigen. Der

Uptake der Milz übertrifft hierbei noch den Uptake der Leber. Mit Hilfe dieser Einteilung kann die Aufnahme des Radiopharmazeutikums verglichen werden. (Hofman, Lau, & Hicks, 2015)

2.7 Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, die Lu-177 DOTATOC-Synthese, im Hinblick auf Material- und Zeiteinsatz zu optimieren und die veränderte Bioverteilung durch Senkung der Peptidmenge in der Zellkultur zu untersuchen.

Es liegt die Vermutung nahe, dass wenn die Peptidmenge, welche bei der Synthese verwendet wird, reduziert wird, dies den Uptake des Peptids im Tumor, bzw. den Metastasen signifikant erhöht. Die Hypothese gründet auf der Tatsache, dass ein bestimmter Tumor immer eine bestimmte Peptidmenge aufnehmen kann. Wären nun nur 10% des eingesetzten Peptids radioaktiv markiert, könnte auch nur 10% des, vom Tumor aufgenommenen Peptids, radioaktiv markiert sein und folglich die gewünschte Dosis deponieren. Wird nun der Anteil an radioaktiv markiertem Peptid erhöht, zum Beispiel durch Senkung der Menge an insgesamt eingesetztem Peptid bei der Synthese, so ist der, vom Tumor aufgenommene Anteil an radioaktivem Peptid, deutlich höher.

Ein weiteres Problem des Einsatzes hoher Peptidmengen besteht darin, dass Rezeptoren an Tumoren und Metastasen auch vollständig besetzt sein können. Somit stehen keine weiteren Rezeptoren zur Aufnahme von weiterem Peptid zur Verfügung. Senkt man nun die Menge an Peptid, nimmt auch das Risiko eines gesättigten Rezeptors ab, sodass die effektive Menge an aufgenommenem Peptid erhöht wird.

Abbildung 10 zeigt eine Langmuir Adsorptionsisotherme. Diese beschreibt die Beladung eines Sorbents durch einen Sorbat. Der Sorbat ist in dieser Arbeit das (radioaktive) Peptid, der Sorbent die sst2-Rezeptoren.

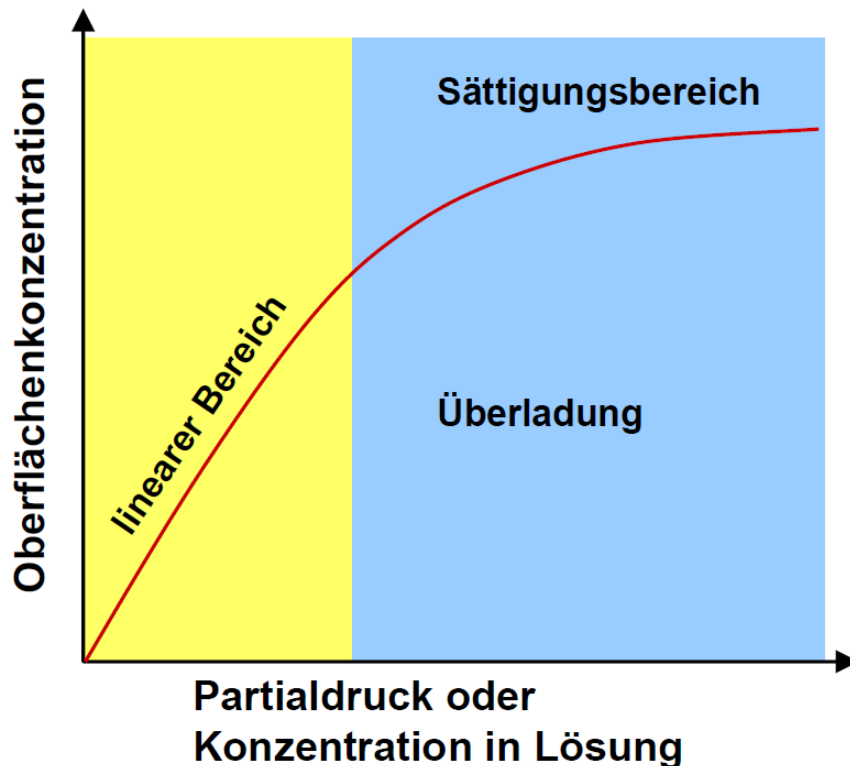


Abbildung 10: Darstellung einer Langmuir Adsorptionsisothermen. (Kohlmann & Huber, 2007)

Im Bereich geringer Konzentrationen an Peptid, besteht ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen Beladung der Rezeptoren und der Konzentration des Peptids, während mit zunehmender Konzentration die Beladung, verständlicherweise, nicht mehr linear zunimmt, sondern gegen ein Maximum tendiert. Dieses Maximum ist die vollständige Belegung aller Rezeptoren eines Tumors. Wird nun also weniger Peptid eingesetzt, könnte man erwarten, dass die effektive Menge an aufgenommenem Peptid wächst, sofern vor der Peptidreduktion schon im Sättigungsbereich gearbeitet wurde. Dies wäre vor allem bei kleineren Tumoren und Tumoren mit einem geringen Rezeptorbesatz der Fall.

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass durch die Peptidreduktion und die gesteigerte Aufnahme des Peptids im Tumor, weniger Peptid für einen Nierenuptake zur Verfügung steht und somit, bei gleicher oder gar höherer Dosis im Tumor, eine geringere Dosis der Niere erreicht werden könnte.

Der veränderte Uptake des Peptids soll in dieser Arbeit an AR42J-Zellen untersucht werden, indem die gleiche Aktivität an Lu-177 DOTATOC und

Cu-64 DOTATOC mit jeweils unterschiedlicher Menge an Peptid auf die Zellen gegeben werden und der jeweilige Uptake bestimmt wird.

Um die gewonnen Erkenntnisse der Zellversuche besser einordnen zu können, werden retrospektiv planare Ganzkörperszintigrafien von Patienten nach dem ersten Zyklus einer Lu-177 DOTATOC-Therapie anhand der Krenning Skala ausgewertet. Hierbei wird auf ein Patientenkollektiv aus dem Jahre 2012 zurückgegriffen, bei dem der Peptideinsatz pro Therapie bei 240 µg DOTATOC lag und auf ein Kollektiv aus dem Jahr 2016, bei dem 40 µg DOTATOC pro Therapie eingesetzt wurde. Die Aktivität, welche den Patienten appliziert wurde, blieb gleich.

3 Ergebnisse

3.1 Verwendete Materialien

Acetonitril für HPLC	Roth
Cu-64	Universität Tübingen
Kieselgelplatten	Merck
DOTATOC	Bachem
Gentisinsäure	Sigma-Aldrich
Lu-177 n. c. a.	ITG Garching
Natriumacetat	Sigma-Aldrich
Milli-Q Wasser	Milli-Q Direct 8 Anlage von Merck Millipore

3.2 Die Lu-177 DOTATOC Synthese

Zu Beginn der Arbeit wurde die Zubereitung von Lu-177 DOTATOC nach einer übernommenen Synthesevorschrift durchgeführt. (Behé, 2012)

Diese sah vor, dass 200 bis 250 µg DOTATOC verwendet werden und die Synthese in einem Natriumascorbat/Ascorbinsäurepuffer durchgeführt wird. Doch mit dieser Spezifikation konnte keine Komplexierung beobachtet werden. Vermutlich stört das Ascorbat die Komplexierung entweder durch Bildung eines Ascorbatkomplexes oder der pH-Wert der Lösung ist zu niedrig gewesen, sodass die Carboxyl- und Aminogruppen des Komplexbildners protoniert vorlagen.

Daher wurde der Puffer für die Reaktion auf einen Natriumacetatpuffer getauscht und Gentisinsäure als Radikalfänger eingeführt.

Nun wurden 4 mg Gentisinsäure in 250 µl eines 0,5 M Natriumacetatpuffers in einem Eppendorfgefäß gelöst. Zu diesem wurden anschließend 200 µg DOTATOC pipettiert und die Lösung anschließend in das Lu-177 Vial überführt. Das Eppendorfgefäß wurde mit weiteren 250 µl Puffer gespült und die Spüllösung wurde ebenfalls in das Lu-177 Vial überführt.

Das Vial wurde nun 22 Minuten bei 106°C auf dem Trockenkocher inkubiert. Nach der Abkühlung wurde eine kleine Menge der Zubereitung mit einer Spritze für die Qualitätskontrolle entnommen.

Dieses Vorgehen wurde unabhängig vom verwendeten Lutetium und unabhängig von der verwendeten Aktivität angewandt.

Lutetium-177 besitzt eine Halbwertszeit von 6,647 Tagen (Magill, Pfennig, Dreher, & Sóti, 2012). Nach der Formel:

$$A = \lambda \cdot N \quad (\text{Formel 1})$$

ergibt sich bei einer Aktivität von 8 GBq und einer Zerfallskonstante von:

$$\lambda = \frac{\ln(2)}{T_{1/2}} \quad (\text{Formel 2})$$

$$\lambda = \frac{\ln(2)}{574301 \text{ s}} = 1,207 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$$

für die Anzahl an radioaktiven Lutetiumatomen also:

$$N = \frac{A}{\lambda} = \frac{8 \cdot 10^9 \text{ Bq}}{1,207 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}} = 6,628 \cdot 10^{15}$$

Nach:

$$n = \frac{N}{N_A} \quad (\text{Formel 3})$$

ergibt sich eine Stoffmenge an radioaktivem Lutetium-177 von:

$$n = \frac{6,628 \cdot 10^{15}}{6,022 \cdot 10^{23}} = 1,1 \cdot 10^{-8} \text{ mol} = 11 \text{ nmol}$$

DOTATOC besitzt eine molare Masse von 1421 $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ und somit könnte bei einem Einsatz von 15,6 µg DOTATOC eine 1:1 Komplexierung erreicht werden.

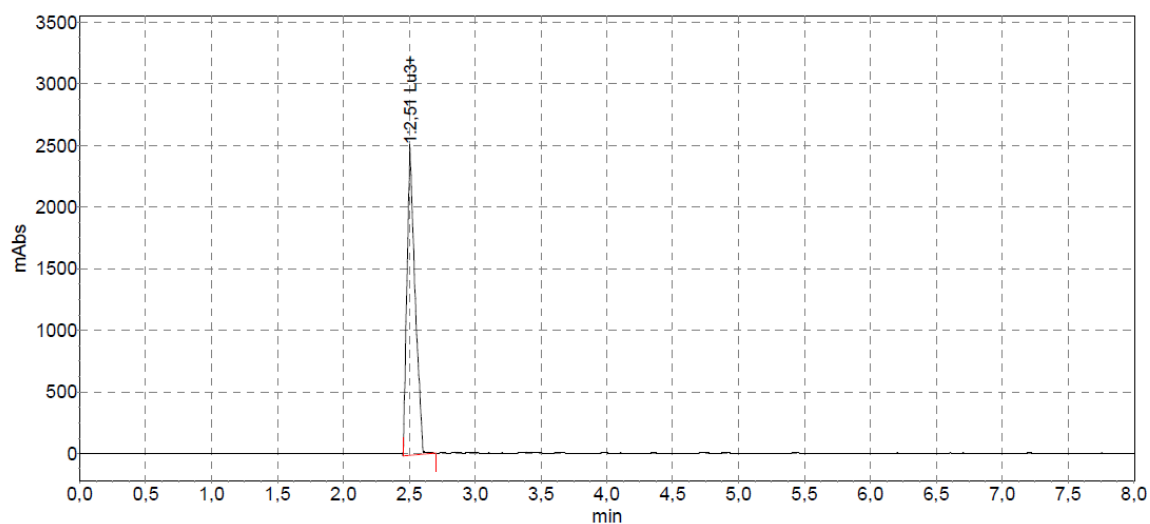
Da das Lutetium für diese Arbeit ohne Träger¹ produziert wurde, ist einzig das Zerfallsprodukt von Lutetium-177, Hafnium, als potentiell Störion vorhanden. Allerdings haben Breeman et al. (Breeman, de Jong, Visser, Erion, & Krenning, 2003) in ihrer Arbeit gezeigt, dass Hafnium, als vierwertiges Kation, keinen Effekt auf die Komplexierung von Lutetium hat.

In weiteren Versuchen wurde daher erforscht, wie weit sich die Peptidmenge reduzieren lässt, ohne dass freies Lutetium im fertigen Radiopharmakon vorhanden ist. Es wurde in den Synthesen sukzessive weniger Peptid eingesetzt, bis schließlich eine Peptidmenge von 20 µg erreicht worden ist, bei der die radiochemische Ausbeute nach wie vor 100 % betrug.

Die Qualitätskontrolle wurde mit zwei verschiedenen Methoden durchgeführt. Zum einen über HPLC mit einer RP-C18-Säule und einer isokratischen Laufmittelzusammensetzung von 68 % Wasser und 32 % Acetonitril mit einem Zusatz von 0,1 % Phosphorsäure. Die Flussrate betrug $1 \frac{ml}{min}$. Bei diesem Aufbau kann im Radioaktivitätsdetektor freies Lutetium-177 bei 2,5 Minuten, Lutetium-177 gebunden als Lu-177 DOTATOC bei 3,5 Minuten detektiert werden.

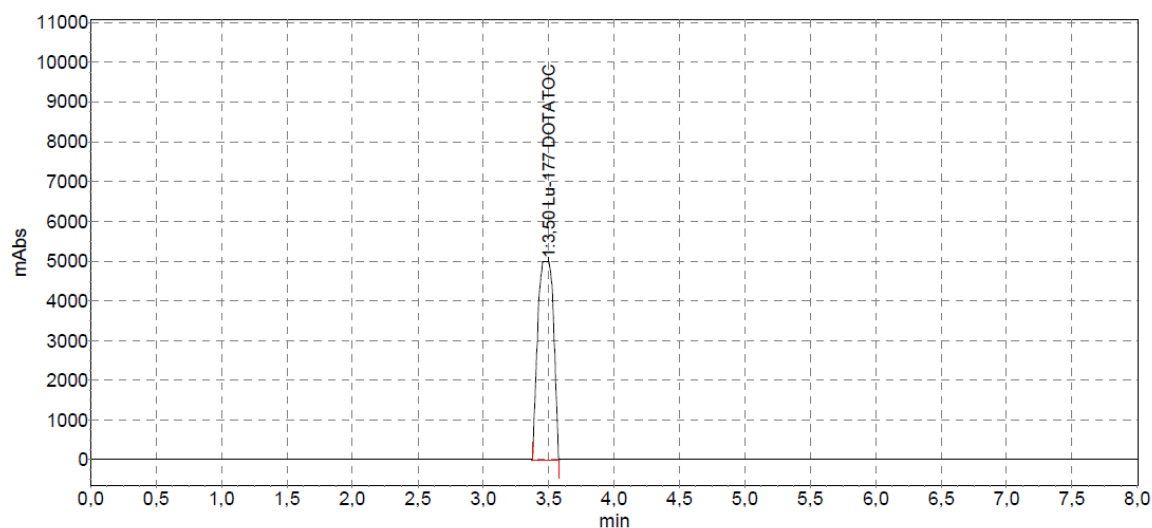
Die Abbildung 11 und Abbildung 12 zeigen die Chromatogramme einmal mit ausschließlich freiem Lutetium-177 (Abbildung 11) und einmal mit einer Probe aus 8 GBq Lu-177 und 20 µg DOTATOC (Abbildung 12). Wie zu erkennen ist, kann bei der Lu-177 DOTATOC-Probe kein freies Lutetium-177 nachgewiesen werden. Somit kann für alle Synthesen mit 8 GBq Lu-177 nur 20 µg DOTATOC, statt der bisher verwendeten 200 µg verwendet werden.

¹ Ohne Träger bedeutet, dass das Lutetium-177 ohne weitere Kationen in der Lösung vorliegt. Bei einer geträgerten Lösung handelt es sich um eine, welcher noch weitere Kationen, meist vom selben Element, aber unterschiedlichen Isotopen, zugesetzt wurden, bzw. produktionsbedingt vorhanden sind.



Sample	Component	Ret.Time min	Height mAbs	Area mAbs*min	Amount	Rel.Area %
Lu-177 DOTATOC 2015: Lu-177 freies Lu Run:6 Ch:4						
1	Lu3+	2,51	2495,69	178,1937	0,0000	100,000
			2495,69	178,1937	0,0000	100,000

Abbildung 11: HPLC Probe mit ausschließlich freiem Lutetium-177.



Sample	Component	Ret.Time min	Height mAbs	Area mAbs*min	Rel.Area %
Lu-177 DOTATOC 2015: Lu-177 01122015_1 Run:70 Ch:3					
1	Lu-177 DOTATOC	3,50	5010,80	696,5741	100,000
				696,5741	100,000

Abbildung 12: HPLC Probe mit 8 GBq Lutetium-177 und 20 µg DOTATOC.

Als zweite Qualitätskontrolle wurde eine DC über Kieselgel mit 0,1 M Natriumcitratlösung bei pH 5,5 als Laufmittel durchgeführt.

Lu-177 DOTATOC verbleibt auf der Startlinie, während freies Lutetium-177 mit der Laufmittelfront wandert. Bei dieser Kontrolle wurden Ausbeuten zwischen 98 und 100 % festgestellt.

3.3 Bestimmung des peptidabhängigen Uptakes

Zur Bestimmung des peptidabhängigen Uptakes wurden zunächst die AR42J-Zellen in vier großen Gewebekulturflaschen gezüchtet.

Am Tag der Bestimmung des Uptakes wurden drei 6-Loch Platten vorbereitet, indem in alle sechs Löcher jeweils 4 ml Medium gegeben wurde. Jeweils drei der sechs Löcher wurden zur Bestimmung des Uptakes verwendet, die anderen drei Löcher wurden mit 200-fachem Überschuss an DOTATOC geblockt.

Die Zellen in den vier Gewebekulturflaschen wurden zusammen in ein großes Zentrifugenröhrchen gegeben, bei 900 rpm 5 Minuten zentrifugiert und der Überstand verworfen. Danach wurden die Zellen in 20 ml Medium resuspendiert und jeweils 1 ml der Zellsuspension in je ein Loch der 6-Loch Platten gegeben. Der Rest der Zellsuspension wurde für eine Zellzählung verwendet. Es wurde darauf geachtet dass die Konzentration der Zellen in jedem Versuch bei ca. 400.000 Zellen pro ml lag. Alle hier vorgestellten Ergebnisse sind zellzahlkorrigiert.

Das radioaktiv markierte Peptid wurde für die verschiedenen Versuchsteile, mit unterschiedlichen Peptidkonzentrationen hergestellt. Für Lu-177 DOTATOC kamen Konzentrationen von $2,5 \frac{ng}{MBq}$; $3,75 \frac{ng}{MBq}$; $5,0 \frac{ng}{MBq}$; $12,5 \frac{ng}{MBq}$ und $25,7 \frac{ng}{MBq}$ zum Einsatz, bei dem Versuchsteil mit Cu-64 DOTATOC kamen Konzentrationen von $5,0 \frac{ng}{MBq}$; $15,0 \frac{ng}{MBq}$; $25,0 \frac{ng}{MBq}$ und $50,0 \frac{ng}{MBq}$ Peptid zum Einsatz.

Zum Start des Versuches wurde nun in alle Löcher der Platten jeweils circa 1 MBq der DOTATOC Lösung pipettiert. Die Zellen wurden anschließend im Brutschrank 1; 2 und 24 Stunden inkubiert. Nach dieser Zeit wurden die Zellen

abpipettiert, in 6 Zentrifugenröhrchen gegeben und bei 900 rpm 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen anschließend mit 5 ml PBS gewaschen, damit das Peptid, welches nicht spezifisch an den sst2-Rezeptor gebunden war, abgespült werden konnte. Es wurde bei der Uptakebestimmung also nur das DOTATOC erfasst, welches spezifisch am sst2-Rezeptor gebunden war, bzw. das Peptid, welches bereits internalisiert war. Die Zellen wurden wieder bei 900 rpm 5 Minuten zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Zellpellet in ein Gammazählrohr überführt. Alle 6 Zellproben wurden nun mit einem Leerwert und einem A_0 Wert, welcher aus 1 MBq der DOTATOC-Lösung bestand, am Gammacounter gemessen. Der Uptake wurde mit folgender Formel berechnet

$$\text{Uptake} = \frac{\text{Zählrate Zellen} - \text{Leerwert}}{A_0 \text{ Wert} - \text{Leerwert}} \quad (\text{Formel 4})$$

3.3.1 Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC

Die Versuchsreihe mit Lu-177 DOTATOC wurde, wie oben beschrieben, in Dreifachbestimmung durchgeführt. Dabei wurde in jeder Versuchsreihe auch der Uptake durch einen 200-fachen Überschuss an nichtmarkiertem DOTATOC geblockt.

Die Ergebnisse der Versuchsreihen mit unterschiedlichen Peptidkonzentrationen sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 aufgeführt. Alle dargestellten Ergebnisse sind zellzahlkorrigiert.

Tabelle 1: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Lu-177 DOTATOC.

Peptid pro MBq	Uptake nach 1h	Uptake nach 2h	Uptake nach 24h
(ng)	(%)	(%)	(%)
2,5	15,82 (0,37)	22,29 (0,27)	42,40 (0,53)
3,75	11,86 (0,96)	17,64 (1,36)	39,50 (1,57)
5,0	11,32 (0,17)	17,45 (0,53)	36,84 (1,62)
12,5	12,06 (0,55)	18,80 (1,26)	32,94 (1,57)
25,7	10,21 (0,45)	15,18 (0,21)	34,48 (0,38)

Tabelle 2: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Lu-177 DOTATOC und 200-fachem Überschuss an DOTATOC als Block.

Peptid pro MBq	Uptake nach 1h	Uptake nach 2h	Uptake nach 24h
(ng)	(%)	(%)	(%)
2,5	11,70 (0,13)	14,79 (0,43)	22,50 (0,54)
3,75	4,89 (0,22)	5,75 (0,03)	9,01 (0,17)
5,0	1,52 (0,18)	1,89 (0,05)	3,45 (0,14)
12,5	0,52 (0,07)	0,60 (0,04)	1,40 (0,04)
25,7	0,51 (0,07)	0,54 (0,05)	1,06 (0,01)

In Abbildung 13 und Abbildung 14 sind die Ergebnisse der Uptakebestimmungen graphisch aufgetragen.

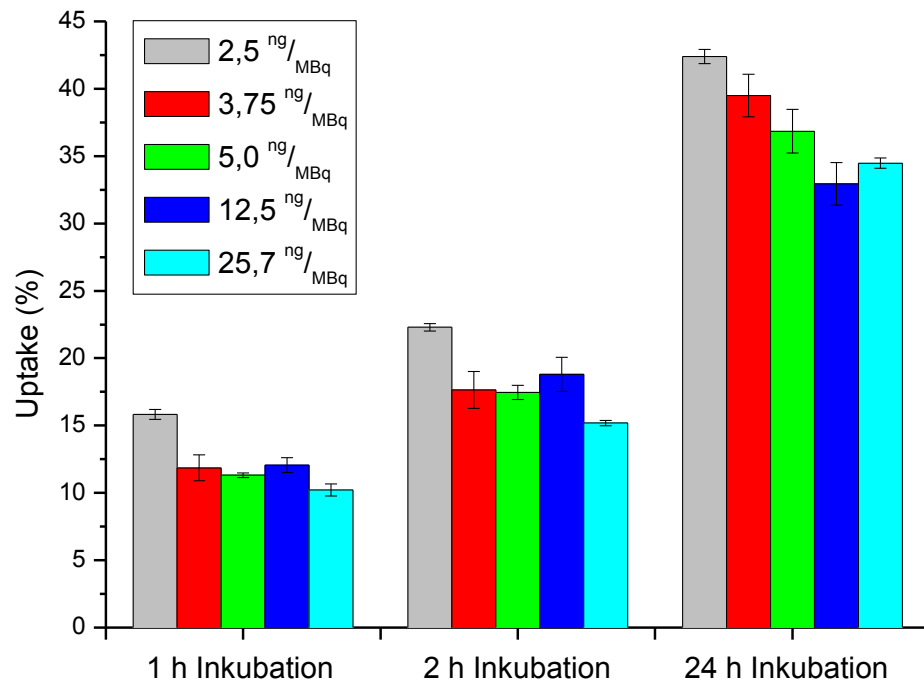


Abbildung 13: Ergebnisse der Uptakebestimmung ohne Block.

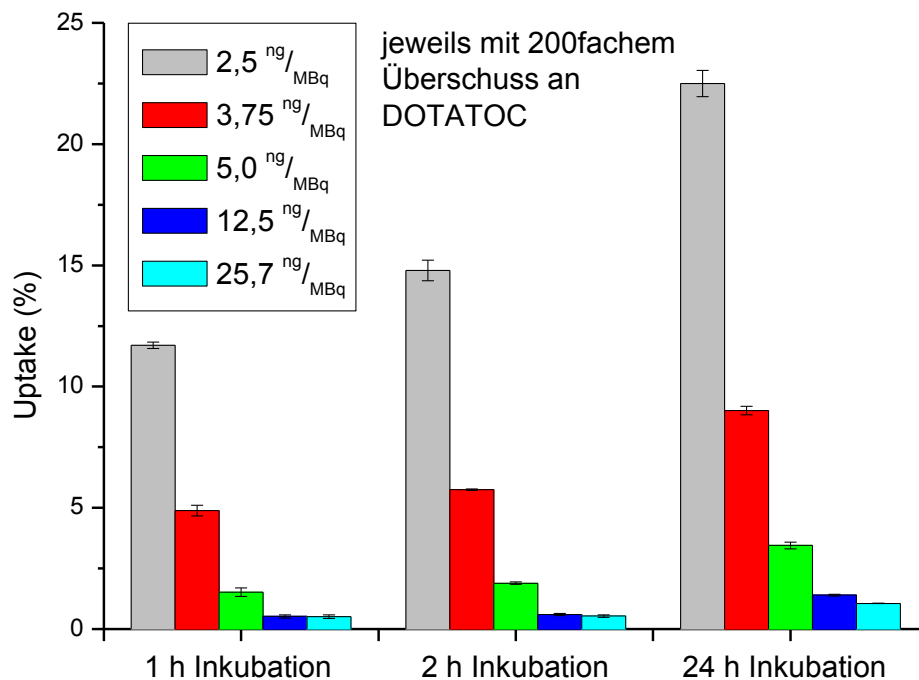


Abbildung 14: Ergebnisse der Uptakebestimmung mit Block.

In den Abbildungen ist zu erkennen, dass der Uptake mit der Konzentration des Peptids direkt zusammenhängt. Steht mehr unmarkiertes Peptid zur Verfügung, kann folglich auch mehr unmarkiertes Peptid an den Rezeptor gebunden werden.

In den folgenden Abbildungen (Abbildung 15 bis Abbildung 19) sind die Ergebnisse mit den verschiedenen Peptidkonzentrationen jeweils getrennt voneinander aufgetragen.

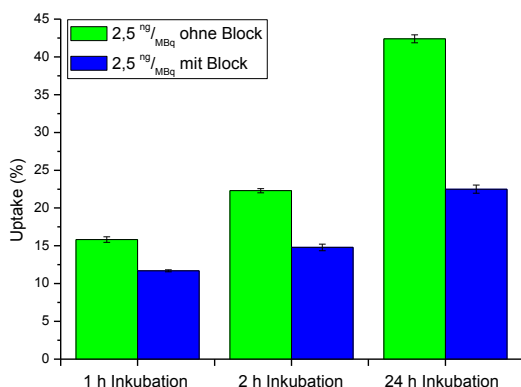


Abbildung 15: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 2,5 ng pro MBq.

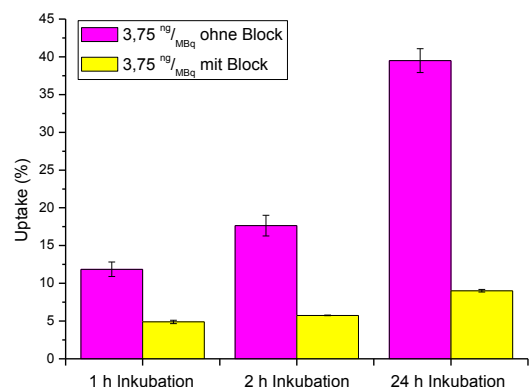


Abbildung 16: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 3,75 ng pro MBq.

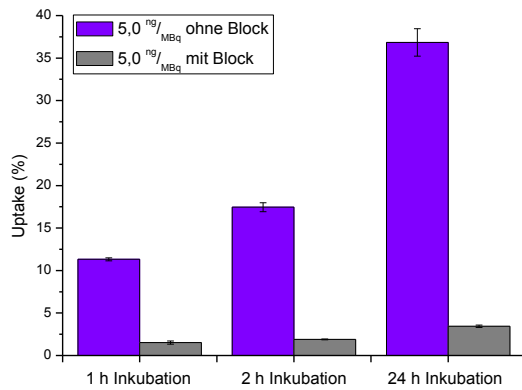


Abbildung 17: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 5,0 ng pro MBq.

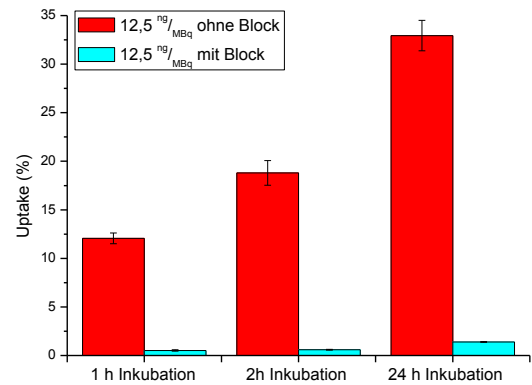


Abbildung 18: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 12,5 ng pro MBq.

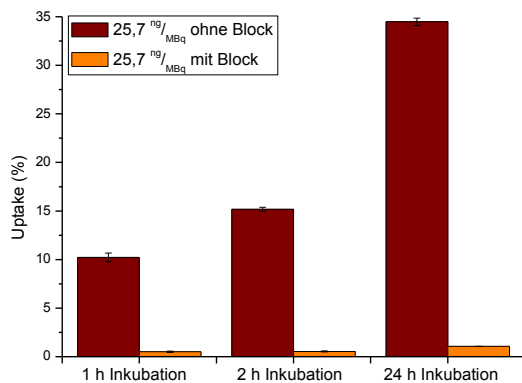


Abbildung 19: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq.

Es ergibt sich ein 54,5% höherer Uptake bei der Bestimmung ohne Block im Vergleich der verschiedenen Peptidkonzentrationen bei einer Inkubationszeit von einer Stunde, während sich bei einer Inkubationszeit von 24 Stunden ein 28,7% höherer Uptake für die Bestimmung ohne Block feststellen ließ.

Betrachtet man die Ergebnisse, welche von der Uptakebestimmung mit Block herrühren, ergibt sich für die Bestimmung mit 2,5 ng DOTATOC pro MBq Lu-177 im Vergleich zu der Bestimmung mit einer Peptidkonzentration von 25,7 $\frac{ng}{MBq}$ sogar eine Erhöhung um das fast 23fache. Bei einer Inkubationszeit von 24 Stunden ist der Uptake der geringsten Peptidkonzentration immer noch um das 21,2fache höher, als bei der höchsten Peptidkonzentration.

In Tabelle 3 und Tabelle 4 sind die Faktoren aufgelistet, um welche sich der Uptake bei den verschiedenen Inkubationszeiten, im Vergleich zu einer Peptidkonzentration von $25,7 \frac{ng}{MBq}$, erhöht.

Tabelle 3: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq für die Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC ohne Block.

Peptid pro MBq (ng)	Faktor der Er- höhung nach 1h	Faktor der Er- höhung nach 2h	Faktor der Er- höhung nach 24h
2,5	1,55 (0,40)	1,47 (0,34)	1,23 (0,21)
3,75	1,16 (0,24)	1,16 (0,21)	1,15 (0,17)
5,0	1,11 (0,15)	1,15 (0,17)	1,07 (0,11)
12,5	1,18 (0,23)	1,24 (0,25)	0,96 (0,11)
25,7	1,00 (0,08)	1,00 (0,03)	1,00 (0,02)

Tabelle 4: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq für die Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC mit Block.

Peptid pro MBq (ng)	Faktor der Er- höhung nach 1h	Faktor der Er- höhung nach 2h	Faktor der Er- höhung nach 24h
2,5	22,94 (0,96)	27,39 (0,97)	21,23 (0,95)
3,75	9,59 (0,91)	10,65 (0,92)	8,50 (0,89)
5,0	2,98 (0,74)	3,50 (0,75)	3,25 (0,71)
12,5	1,02 (0,25)	1,11 (0,23)	1,31 (0,27)
25,7	1,00 (0,24)	1,00 (0,17)	1,00 (0,02)

In allen Spalten ist zu erkennen, dass der Uptake sich stark erhöht, wenn die Peptidkonzentration verringert wird. In der Uptakebestimmung mit Block fällt die Erhöhung sogar um einiges deutlicher aus.

Abbildung 20 zeigt diesen Zustand grafisch für die Versuchsreihen ohne Block.

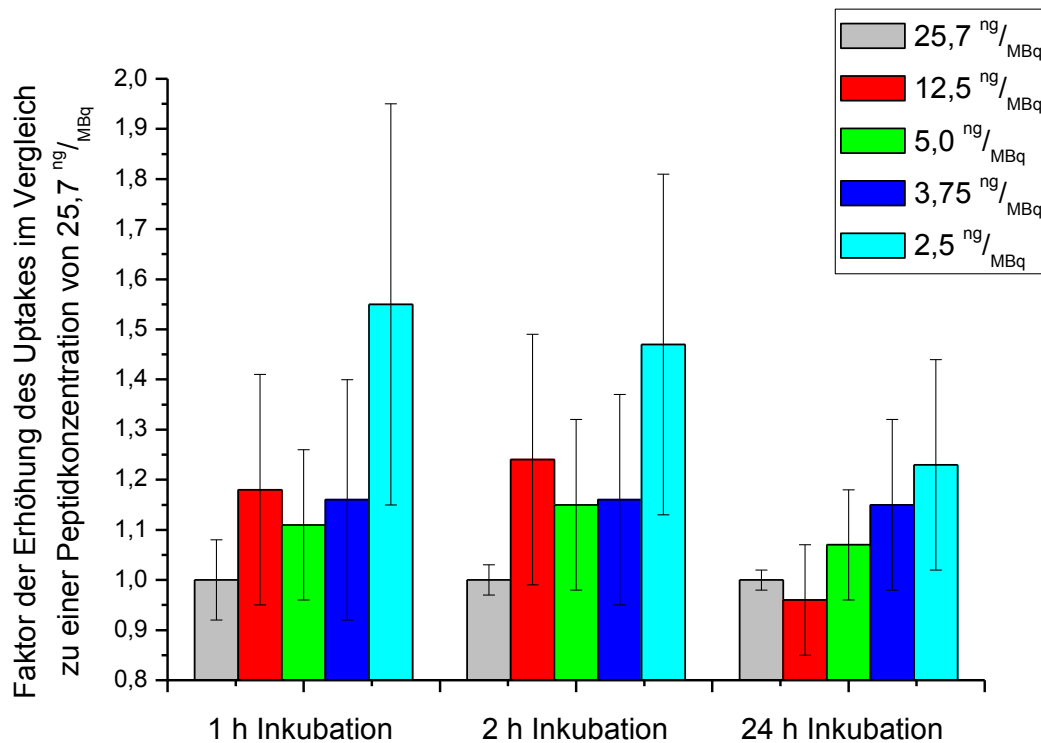


Abbildung 20: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq ohne Block.

Es ist zu erkennen, dass bei einer Inkubationszeit von einer Stunde die größte Erhöhung des Uptakes erfolgt. Diese Erhöhung nimmt bis zur Inkubationszeit von 24 Stunden ab. Der Trend, dass sich bei einer geringeren Peptidkonzentration der Uptake an den Zellen erhöht, bleibt hiervon aber ungebrochen.

Eine Reduktion der Peptidkonzentration auf ein Zehntel, verzehnfacht jedoch nicht den Uptake. Dies war auch nicht zwangsläufig zu erwarten, da die Langmuir Adsorptionsisotherme im linearen Bereich keine Gerade mit der Steigung eins aufweisen muss. In diesem Bereich kann jede beliebige Steigung, abhängig von der Beschaffenheit des Adsorbens (in dieser Arbeit also den Zellen), vorhanden sein.

Auch ist es so, dass die Erhöhung des Uptakes umso niedriger ausfällt, je länger die Inkubationszeit war. Eine Erklärung dafür wäre, dass die Strahlung die Zellen abtöten kann. Dies geschieht umso häufiger, je länger die Strahlung auf die Zellen einwirkt, also mehr Dosis deponiert. Daher sind nach 24 Stunden

Inkubationszeit mehr Zellen zerstört als nach einer oder zwei Stunden. Eine andere Erklärung könnte jedoch sein, dass die Zellen nach 24 Stunden mehr Peptid internalisiert haben, als nach nur einer oder zwei Stunden. Außerdem werden mehr Zellen nach einer langen Inkubationszeit aktives Peptid internalisiert haben, sodass hier eine Sättigung eintreten wird. Anschließend besteht die Erhöhung noch aus einer Ad- und Desorption des Peptids von den Rezeptoren.

Da das Peptid aber eine sehr schnelle Blutclearance besitzt (Forrer, et al., 2004), sind therapeutisch vor allem die ersten Stunden nach Injektion von großer Bedeutung.

Abbildung 21 zeigt die grafische Auftragung der Uptakeerhöhung in der Versuchsreihe mit Block.

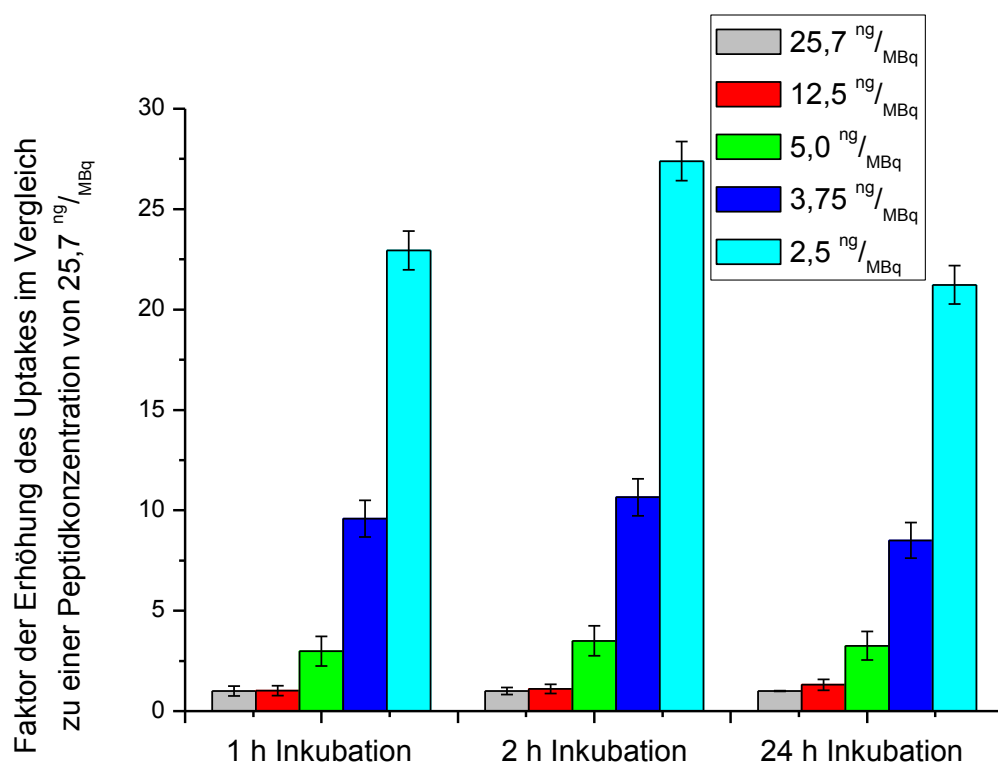


Abbildung 21: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq mit Block.

In der Versuchsreihe mit Block fällt die Erhöhung des Uptakes noch um einiges stärker aus, als in der Versuchsreihe ohne Block.

Dieser Umstand scheint wenig verwunderlich, wenn man die Stoffmenge an eingesetztem Peptid vergleicht. Zwar wurde bei allen Versuchsreihen mit Block mit einem 200-fachen Überschuss an DOTATOC gearbeitet, führt man sich aber vor Augen, dass man sich im Sättigungsbereich der Langmuir Adsorptionsisothermen befindet, wird klar, dass schon eine geringe Reduktion der Konzentration einen größeren Einfluss auf das Adsorptionsvermögen hat, als würde man im linearen Bereich arbeiten. In Abbildung 22 sind diese Bereiche noch einmal zur Verdeutlichung dargestellt.

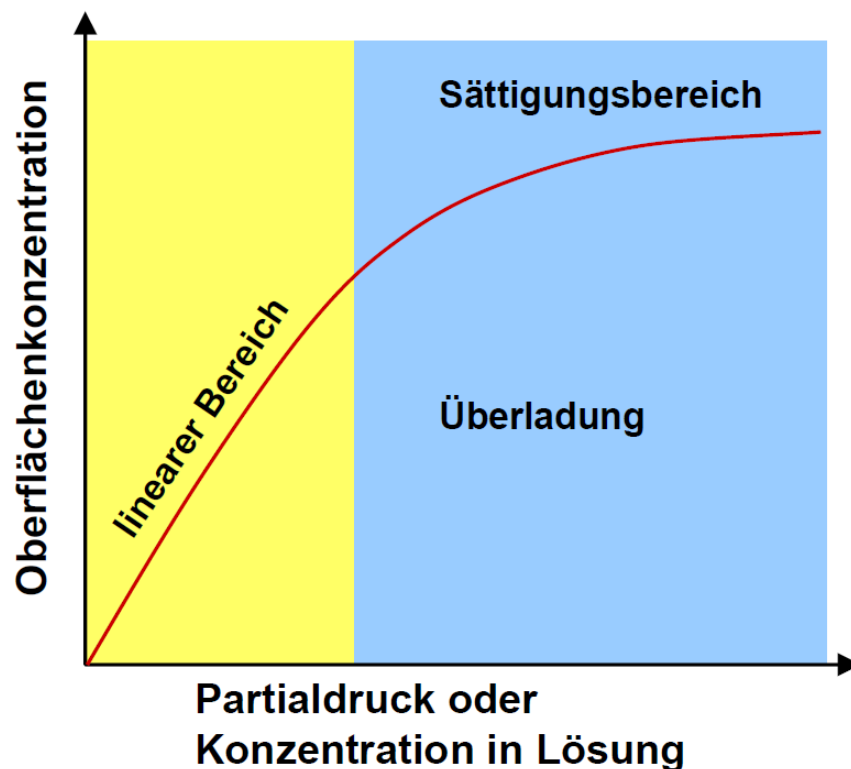


Abbildung 22: Langmuir Adsorptionsisotherme. (Kohlmann & Huber, 2007)

3.3.2 Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC

Die Versuchsreihe mit Cu-64 DOTATOC wurde ebenfalls, wie oben beschrieben, in Dreifachbestimmung durchgeführt. Dabei wurde in jeder Versuchsreihe auch der Uptake durch einen 200-fachen Überschuss an nichtmarkiertem DOTATOC geblockt.

Die Ergebnisse der Versuchsreihen mit unterschiedlichen Peptidkonzentrationen sind in Tabelle 5 und Tabelle 6 aufgeführt. Alle dargestellten Ergebnisse sind zellzahlkorrigiert.

Tabelle 5: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Cu-64 DOTATOC.

Peptid pro MBq	Uptake nach 1h	Uptake nach 2h	Uptake nach 24h
(ng)	(%)	(%)	(%)
5,0	13,56 (0,64)	16,86 (2,16)	15,38 (0,53)
15,0	8,71 (0,20)	14,61 (0,63)	21,72 (0,24)
25,0	7,57 (0,30)	11,21 (0,74)	23,91 (5,40)
50,0	10,33 (0,19)	12,36 (0,27)	22,52 (0,35)

Tabelle 6: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Cu-64 DOTATOC und 200-fachem Überschuss an DOTATOC als Block.

Peptid pro MBq	Uptake nach 1h	Uptake nach 2h	Uptake nach 24h
(ng)	(%)	(%)	(%)
5,0	3,63 (1,19)	3,37 (1,95)	7,41 (0,70)
15,0	0,46 (0,03)	0,68 (0,06)	1,97 (0,25)
25,0	0,81 (0,14)	1,11 (0,14)	3,76 (0,14)
50,0	0,69 (0,20)	0,79 (0,12)	1,21 (0,15)

In der Abbildung 23 und der Abbildung 24 sind die Ergebnisse der Uptakeversuche graphisch aufgetragen.

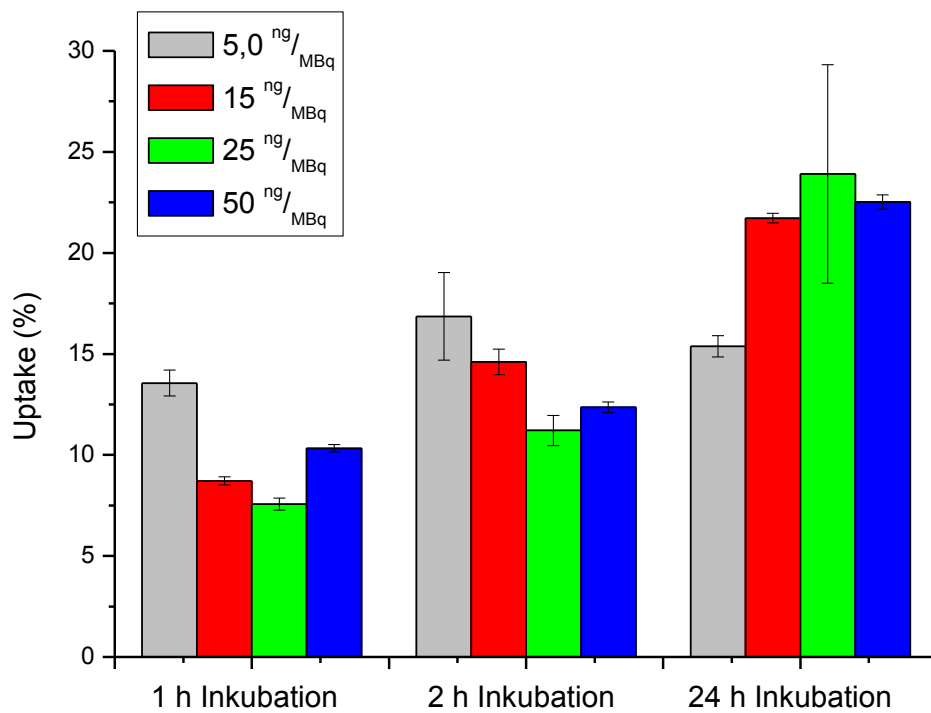


Abbildung 23: Ergebnisse der Uptakebestimmung ohne Block.

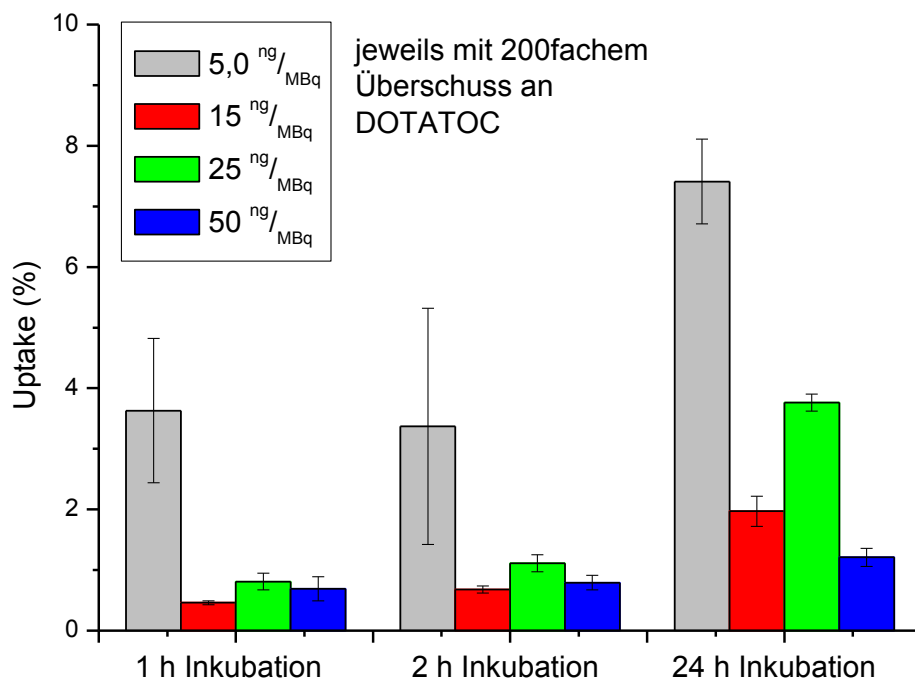


Abbildung 24: Ergebnisse der Uptakebestimmung mit Block.

Die Ergebnisse sind nicht ganz so konsistent wie die Uptakebestimmung der verschiedenen Peptidkonzentrationen mit Lu-177 DOTATOC, jedoch lässt sich

auch in dieser Versuchsreihe die eindeutige Tendenz ablesen, dass der Uptake umso niedriger ausfällt, je mehr Peptid zur Verfügung steht. Dies ist auch in Abbildung 25 bis Abbildung 28 dargestellt.

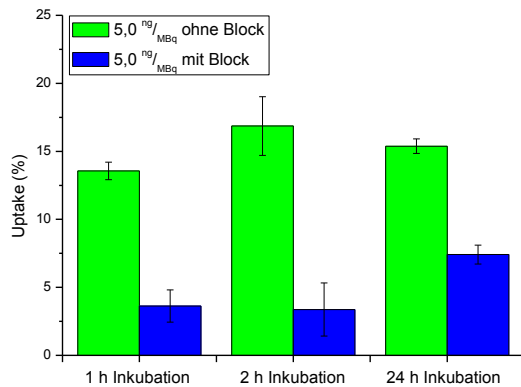


Abbildung 25: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 5,0 ng pro MBq.

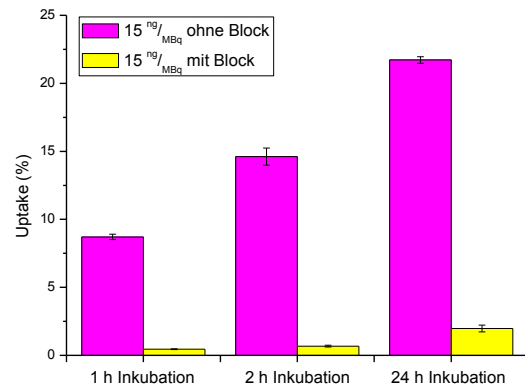


Abbildung 26: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 15 ng pro MBq.

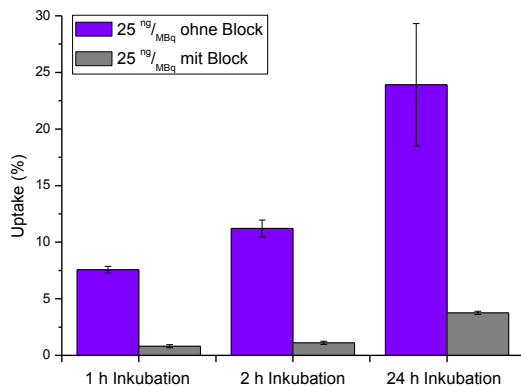


Abbildung 27: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 25 ng pro MBq.

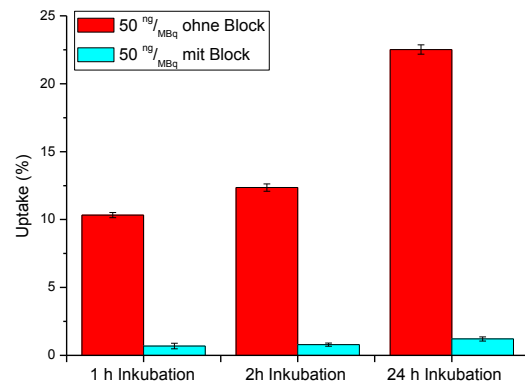


Abbildung 28: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 50 ng pro MBq.

Dieses Ergebnis steht, wie in der Einleitung vermutet und in der Diskussion erläutert, in Verbindung mit der Theorie der Langmuir Adsorptionsisothermen. Wenn also bei gleichbleibender Anzahl der radioaktiv markierten Peptidmoleküle, immer mehr unmarkiertes Peptid zur Konkurrenz am Rezeptor zur Verfügung steht, wird es unwahrscheinlicher, dass das radioaktiv markierte Peptid am Rezeptor gebunden wird. Genau diese Tatsache schlägt sich im fallenden Uptake bei höherer Peptidkonzentration nieder.

In Tabelle 7 und Tabelle 8 sind die Faktoren der Erhöhung des Uptakes, wie schon in der Versuchsreihe mit Lu-177 DOTATOC, aufgeführt.

Tabelle 7: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq für die Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC ohne Block.

Peptid pro MBq (ng)	Faktor der Er- höhung nach 1h	Faktor der Er- höhung nach 2h	Faktor der Er- höhung nach 24h
5,0	1,31 (0,29)	1,36 (0,36)	0,68 (0,39)
15,0	0,84 (0,14)	1,18 (0,21)	0,96 (0,06)
25,0	0,73 (0,29)	0,91 (0,21)	1,06 (0,24)
50,0	1,00 (0,04)	1,00 (0,04)	1,00 (0,03)

Tabelle 8: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq für die Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC mit Block.

Peptid pro MBq (ng)	Faktor der Er- höhung nach 1h	Faktor der Er- höhung nach 2h	Faktor der Er- höhung nach 24h
5,0	5,26 (0,90)	4,27 (0,87)	6,12 (0,87)
15,0	0,67 (0,42)	0,86 (0,47)	1,63 (0,52)
25,0	1,17 (0,48)	1,41 (0,06)	3,11 (0,73)
50,0	1,00 (0,45)	1,00 (0,26)	1,00 (0,22)

Diese Faktoren weisen deutlich andere Werte auf, als die Faktoren in der Lu-177 Versuchsreihe. Dies könnte daran liegen, dass Cu-64 nur eine Halbwertszeit von 12,7 Stunden besitzt (Magill, Pfennig, Dreher, & Sóti, 2012) und daher die Zerfallskorrektur, welche bei allen Versuchsreihen durchgeführt wurde, sich stark auswirken konnte.

Cu-64 wird außerdem durch Protonenbeschuss von Ni-64 in einer (p,n) Reaktion hergestellt, sodass hier, auch nach Aufreinigung, noch Verunreinigungen, wie Nickel oder andere Kupferisotope, vorhanden sein können. (Paul, et al.) Diese erhöhen dann den markierten Anteil an Peptid und verändern die Affinität des Peptides zu den Rezeptoren, dies kann die Ergebnisse zum Teil beeinflussen.

Trotzdem erkennt man, vor allem in der Versuchsreihe mit Block, dass auch hier der Uptake ansteigt, wenn man die Peptidkonzentration senkt. In Abbildung 29 und Abbildung 30 ist dies grafisch gezeigt.

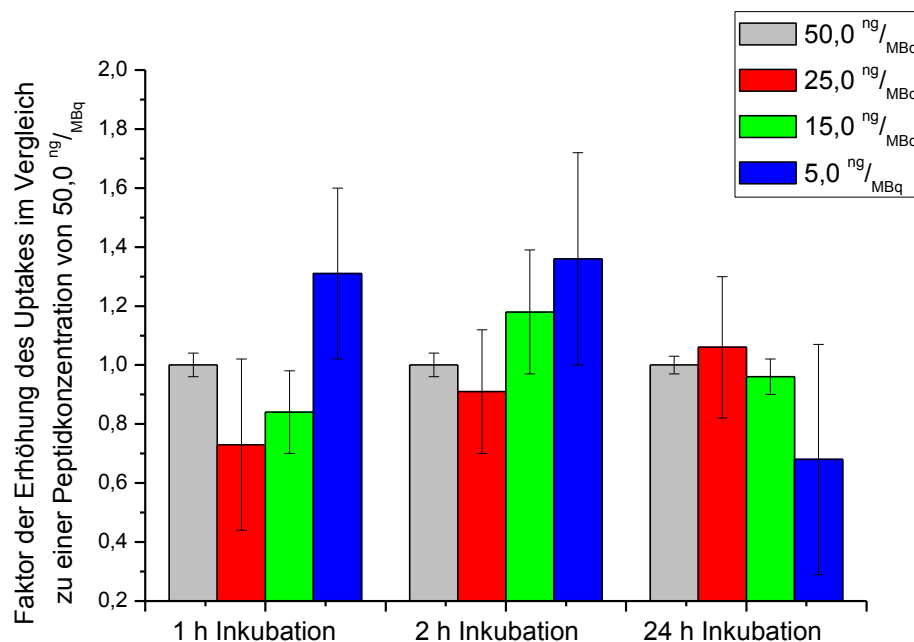


Abbildung 29: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq ohne Block.

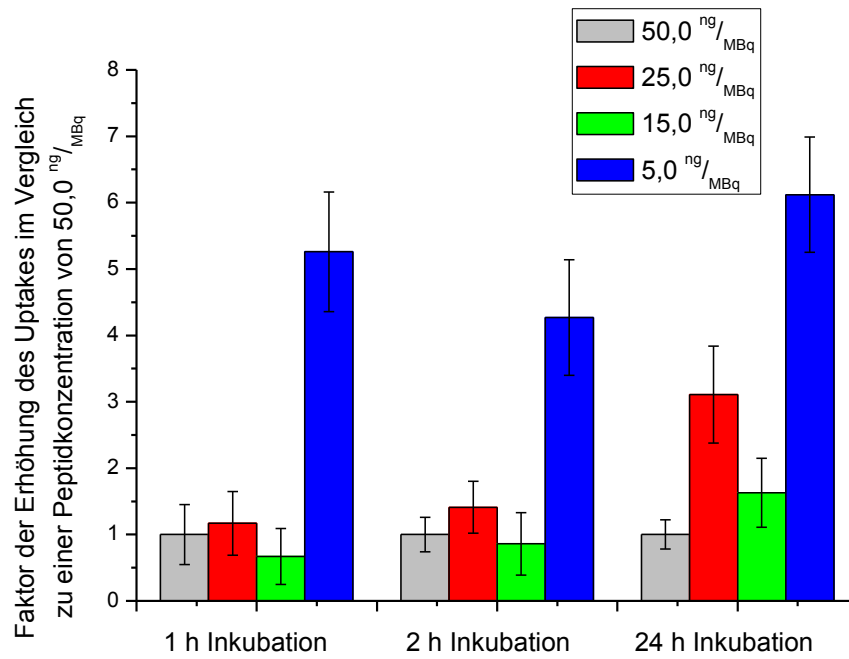


Abbildung 30: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq mit Block.

3.3.3 Vergleich beider Versuchslinien

In den folgenden Abbildungen (Abbildung 31 bis Abbildung 33) sind die Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block gegenübergestellt.

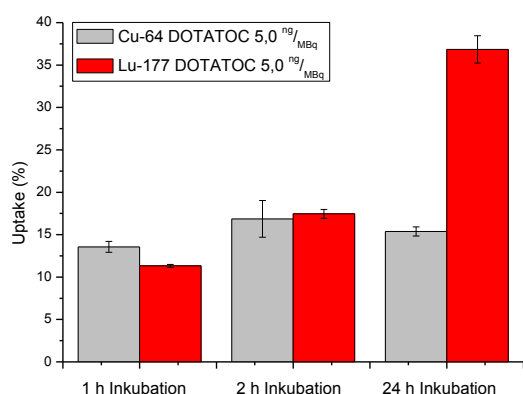


Abbildung 31: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.

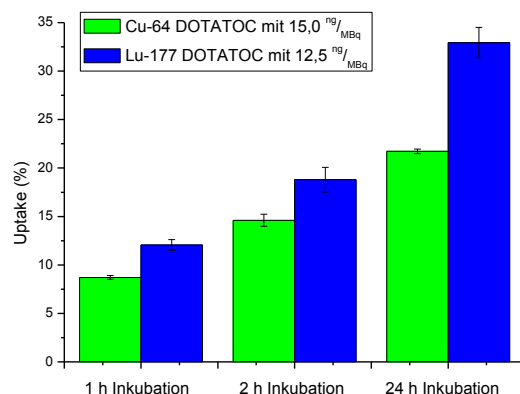


Abbildung 32: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.

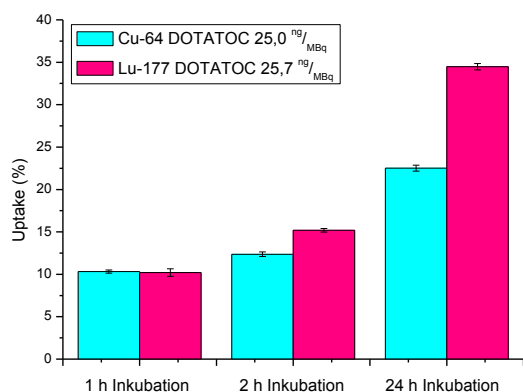


Abbildung 33: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.

Den Abbildungen ist zu entnehmen, dass der Uptake von Lu-177 DOTATOC durchweg höher ist, als der Uptake von Cu-64 DOTATOC. Das Ergebnis ist wenig verwunderlich, wenn man die Stoffmengen betrachtet, welche in dem Versuch verwendet wurden. Zwar wurde die Peptidkonzentration bei beiden

Versuchslinien konstant gehalten, dennoch ist, bedingt durch die kürzere Halbwertszeit von Cu-64 (Magill, Pfennig, Dreher, & Söti, 2012), die Stoffmenge an aktivem Cu-64 deutlich geringer als die Stoffmenge von Lu-177.

So ist bei einer Aktivität von 1 MBq die Stoffmenge an Lu-177 nach:

$$n = \frac{A}{\lambda \cdot N_A} \quad (\text{Formel 5})$$

$$\begin{aligned} n &= \frac{1000000 \text{ s}^{-1}}{1,207 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} \\ &= 1,376 \cdot 10^{-12} \text{ mol} = 1,376 \text{ pmol} \end{aligned}$$

Für die Stoffmenge an Cu-64 ergibt sich mit einer Zerfallskonstante von:

$$\lambda = \frac{\ln(2)}{T_{1/2}} = \frac{\ln(2)}{45720 \text{ s}} = 1,516 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$$

eine Stoffmenge an radioaktivem Cu-64 für eine Aktivität von 1 MBq:

$$\begin{aligned} n &= \frac{1000000 \text{ s}^{-1}}{1,516 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} \\ &= 1,095 \cdot 10^{-13} \text{ mol} = 0,1096 \text{ pmol} \end{aligned}$$

Das bedeutet also, dass die Stoffmenge an radioaktivem Lutetium, die Stoffmenge an radioaktivem Kupfer um mehr als das 12,5 fache übertrifft. Somit ist auch, da sich die Peptidkonzentrationen auf die Aktivität beziehen, im Falle des Lu-177 DOTATOC mehr als das 12,5 fache an Peptid mit radioaktiven Atomen markiert.

Mit einer molaren Masse von $1421 \frac{g}{mol}$ besitzen 5 ng DOTATOC eine Stoffmenge von 3,52 pmol. Somit ergeben sich für den Anteil an markiertem Peptid die in Tabelle 9 genannten Werte.

Tabelle 9: Vergleich des markierten Anteils an DOTATOC von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.

Peptid pro MBq (ng)	Anteil an markiertem DOTATOC bei Lu-177 DOTATOC (%)	Anteil an markiertem DOTATOC bei Cu-64 DOTATOC (%)
5,0	39,1	3,1
12,5 / 15,0	15,6	1,0
25,7 / 25,0	7,6	0,6

Dies ist die Erklärung für den höheren Uptake von Lu-177 DOTATOC im Vergleich zu Cu-64 DOTATOC. Für jedes Molekül, welches von der Zelle aufgenommen wird, ist die Wahrscheinlichkeit ein markiertes Molekül aufzunehmen, bei Lu-177 DOTATOC deutlich höher, als das bei Cu-64 DOTATOC der Fall ist.

In den folgenden Abbildungen (Abbildung 34 bis Abbildung 36) sind die Vergleiche der beiden Uptakeversuche mit Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit jeweils 200-fachem Überschuss an DOTATOC als Block dargestellt.

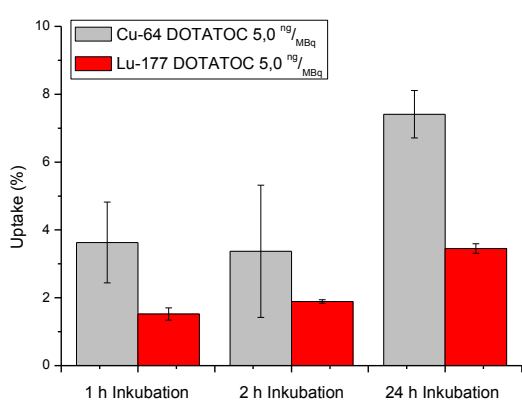


Abbildung 34: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.

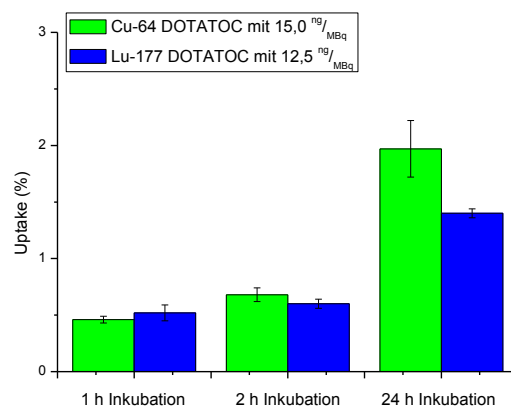


Abbildung 35: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.

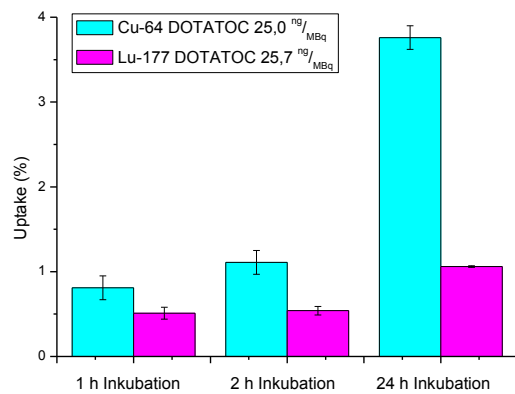


Abbildung 36: Vergleich der Uptakeversuche von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.

Auch in diesem direkten Vergleich erkennt man eine Abhängigkeit des Uptakes von der eingesetzten Peptidmenge. Jedoch ist dieses Ergebnis genau umgekehrt zu dem Ergebnis des Vergleichs ohne Block. So zeigt hier Cu-64 DOTATOC einen höheren Uptake im Zellversuch, als Lu-177 DOTATOC. Die Ursache kann in diesem Fall jedoch nicht die Stoffmenge des markierten Peptids sein, da sich die Verhältnisse zwischen Cu-64 DOTATOC und Lu-177 DOTATOC nicht geändert haben. Der Anteil an markiertem Peptid mit Block ist in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Vergleich des markierten Anteils an DOTATOC von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.

Peptid pro MBq (ng)	Anteil an markiertem DOTATOC bei Lu-177 DOTATOC mit Block (%)	Anteil an markiertem DOTATOC bei Cu-64 DOTATOC mit Block (%)
5,0	0,194	0,015
12,5 / 15,0	0,078	0,005
25,7 / 25,0	0,038	0,003

3.4 Auswertung der planaren Ganzkörperszintigrafien

Um eine erste Einschätzung einer veränderten Bioverteilung zu erhalten, werden im Folgenden jeweils 10 planare Ganzkörperszintigrafien, nach einem ersten Zyklus Lu-177 DOTATOC anhand der Krenning-Skala ausgewertet.² Dazu werden jeweils bei allen Szintigrammen die Nieren und die drei am intensivsten speichernden Metastasen mit einem Krenningscore versehen und am Ende der Auswertung die erhaltenen Werte addiert, um diese anschließend zu vergleichen.

In den folgenden beiden Abbildungen (Abbildung 37 und Abbildung 38) sind zwei Beispielszintigramme dargestellt, einmal mit einer guten Speicherung des Lu-177 DOTATOC (Abbildung 37) und einmal mit einer eher geringeren Speicherung (Abbildung 38).

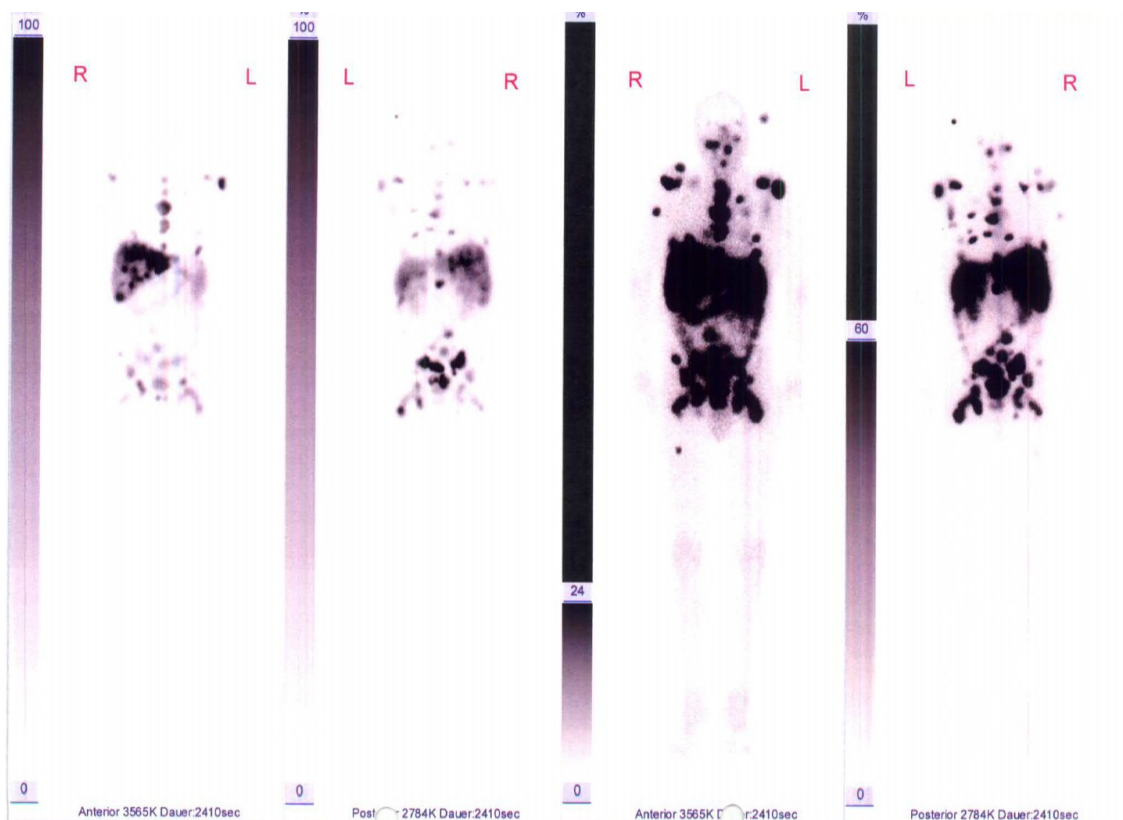


Abbildung 37: Ganzkörperszintigramm mit guter Speicherung in den Metastasen.

² Die Therapien mit Lu-177 DOTATOC in den Jahren 2012 und 2016 wurden in der Klinik für Nuklearmedizin Marburg von Dr. Andreas Pfestroff und Dr. Damiano Librizzi durchgeführt. Für diese Arbeit wurden lediglich die bestehenden Daten für eine Auswertung herangezogen.

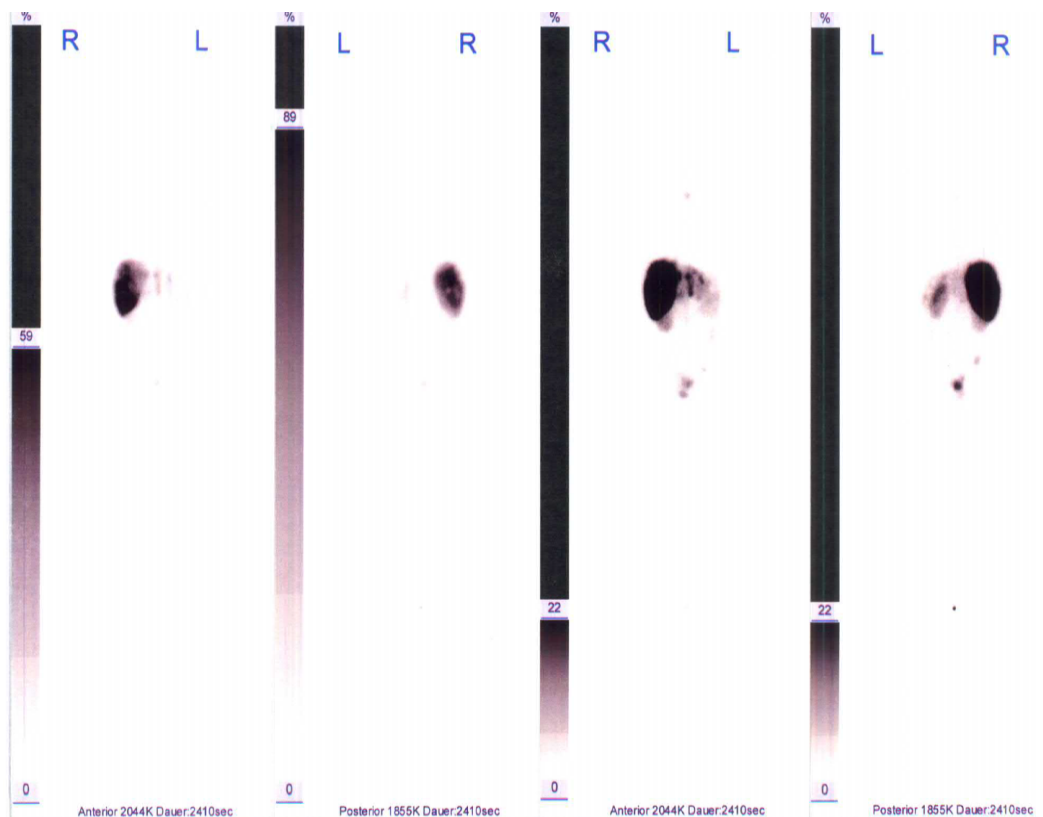


Abbildung 38: Ganzkörperzintigramm mit schlechter Speicherung in den Metastasen.

In Tabelle 11 sind die summierten Krenningscores der Auswertung der 10 planaren Ganzkörperzintigrafien aufgelistet.

Tabelle 11: Summe der Krenningscores aus den 10 Ganzkörperzintigrafien der Jahre 2012, bzw. 2016.

Ort	Summe Krenningscore	Summe Krenningscore
	2012	2016
Niere	14	16
Metastase 1	34	36
Metastase 2	31	30
Metastase 3	23	29

Es ergibt sich, mit Ausnahme der Metastase 3, kein Unterschied in der Summe der Krenningscores.

Vermutlich ist das Verfahren nicht sensitiv genug, um kleine Unterschiede in der Aufnahme des Radiopeptids ausreichend genau darzustellen. Es zeigt sich jedoch auch, dass, bei einer Verringerung der Peptidmenge, keine gegenteiligen Effekte zu Tage treten. Das bedeutet, die Aufnahme von DOTATOC wird durch eine geringere Peptidmenge auch nicht gehemmt. Für eine genauere Bestimmung der Aufnahme müsste eine detailliertere Auswertung, beispielsweise mit einer Dosimetrie, der Therapien erfolgen. Auch wäre es vorteilhaft, ein größeres Patientenkollektiv zu betrachten, da es unter anderem deutliche Unterschiede der Metastasierungsmuster, der Größe der Metastasen und ihrer Proliferationsrate gibt.

Zumindest kann festgehalten werden, dass offensichtlich durch die Verringerung der eingesetzten Peptidmenge, keine Verschlechterung der Speicherung von DOTATOC eintritt und somit die Kosten für eine Synthese des Radiopharmakons gesenkt werden könnten.

3.5 Diskussion

Die Optimierung der Synthese von Lu-177 DOTATOC, die das Ziel des ersten Teils dieser Arbeit war, führte zu einer Synthesanleitung, welche eine deutlich geringere Menge an Peptid einsetzt.

Die ursprüngliche Ausgangsmenge von 200-250 µg DOTATOC pro 8 GBq Lu-177 konnte auf lediglich 20 µg DOTATOC gesenkt werden. Dies ist unter anderem auch dem Umstand zu verdanken, dass in dieser Arbeit „nicht geträgertes“ Lu-177 zum Einsatz kam. Dieses wird aus einer Neutronenaktivierung von Yb-176 gewonnen. Yb-176 wird zu Yb-177 aktiviert, welches dann mit einer Halbwertszeit von 1,9 Stunden in den Grundzustand von Lu-177 zerfällt. Nun kann Lutetium chemisch vom Ytterbium abgetrennt werden. Ein Vorteil der Herstellung von Lu-177 über Yb-176 ist, dass kein metastabiles Lu-177m, mit einer Halbwertszeit von 160,4 Tagen, gebildet wird. Stellt man Lu-177 aber über Neutronenaktivierung aus Lu-176 her, wird neben Lu-177 auch Lu-177m gebildet. Da sowohl Lu-176, Lu-177, als auch Lu-177m dieselben chemischen Eigenschaften aufweisen, ist es unmöglich die drei Nuklide voneinander zu trennen. Somit ist im Lu-177 Produkt, welches über Neutronenaktivierung von Lu-176 hergestellt wurde, immer noch Lu-176 enthalten. Daher nennt man dieses Lu-177 auch „geträgertes“ Lutetium, also Lu-177 c. a.. Im Lu-177 n. c. a. ist kein Lu-176 und kaum Yb-176 vorhanden, sodass dieses gegenüber Lu-177 c. a. eine viel höhere spezifische Aktivität von über $3000 \frac{GBq}{mg}$ gegenüber $500 \frac{GBq}{mg}$ beim Lu-177 c. a. besitzt. (IDB, 2016) (ITG, 2013) (Magill, Pfennig, Dreher, & Sóti, 2012)

Mit der deutlich höheren spezifischen Aktivität von nicht geträgertem Lu-177 erklärt sich auch der geringere Peptidbedarf bei der Markierung von DOTATOC mit Lu-177. Der Fakt, dass kein Lu-177m im Lu-177 n. c. a. vorliegt, ist ein strahlenhygienischer Vorteil, weil die Abklinganlage der Klinik nicht durch ein langlebiges Nuklid belastet wird.

Neben der Peptidmenge konnte auch der eingesetzte Puffer optimiert werden. Für die Synthesen wird nun ein Natriumacetatpuffer der Konzentration 0,5 M eingesetzt. Der Puffer wird vor jeder Synthese frisch aus Natriumacetat hergestellt und muss nicht im pH-Wert eingestellt werden. Denn Essigsäure hat einen pKs Wert von 4,76 und Lu-177 n. c. a. wird in 0,04 M Salzsäure

ausgeliefert, sodass sich im Reaktionsgefäß ein Puffer bildet, welcher einen pH-Wert von ungefähr 5 besitzt. (ITG, 2013) (Rausch, 2016)

Das Puffersystem und die Peptidmenge von 20 µg DOTATOC pro 8 GBq Lu-177 n. c. a. haben auch bei Wiederholungsversuchen immer optimale Ausbeuten erreicht. Folglich kann diese Synthesevorschrift nun für alle folgenden Synthesen von Lu-177 DOTATOC angewendet werden.

Wie zu erwarten war, bestätigen die Versuche im zweiten Teil dieser Arbeit, dass es einen direkten Zusammenhang gibt zwischen Tumortake und Peptidmenge, bzw. Peptidkonzentration. Je mehr Peptid zur Verfügung steht, desto geringer fällt die Aufnahme aus, da sich an den Rezeptoren eine Konkurrenz um den Rezeptorbesatz ausbildet.

Dies ist insofern relevant, da das eingesetzte Peptid wohl kaum vollständig markiert ist (siehe Tabelle 9 und Tabelle 10) und somit auch Konkurrenz um den Rezeptor mit nicht markiertem Peptid entsteht.

Dies wiederum kann man in Zusammenhang mit dem Einsatz von Lu-177 n. c. a. bringen. Verwendet man zur Synthese von Lu-177 DOTATOC „ungeträgertes“ Lu-177 als Edukt, lässt sich ein deutlich geringerer Einsatz an Peptid erreichen, als wenn man für die gleiche Aktivität „geträgertes“ Lu-177 verwenden würde. Anhand der Datenblätter der beiden Lu-177 Varianten ergibt sich hier mindestens ein Faktor von 6, was bedeuten würde, dass wenn in dieser Arbeit geträgertes Lu-177 verwendet worden wäre, hätte für die Synthese mindestens 93,6 µg an DOTATOC eingesetzt werden müssen, anstatt 15,6 µg DOTATOC wie in Kapitel 3.2 beschrieben.

Arbeiten von de Jong et al. und Velikyan et al. (de Jong, et al., 1999) (Velikyan, et al., 2010) bestätigen diese Beobachtung, und demonstrieren auch, dass bei einem Überangebot an Peptid, der Uptake sinkt.

Zudem zeigen diese Arbeiten auch, dass es ein Optimum an eingesetzter Peptidmenge gibt, so sinkt der Uptake wieder, wenn sehr wenig Peptid eingesetzt wird. Dies ist auch nicht verwunderlich, denn die Kontaktzeit des Peptides mit dem Rezeptor ist auf Grund des Blutflusses nur begrenzt. Ist nun sehr wenig Peptid vorhanden, kann auch nur wenig Peptid gebunden werden. Man kommt also bei der Verwendung einer geringen Menge an Peptid

zwangsläufig in einen Bereich, in dem die Peptidkonzentration nicht mehr ausreicht um genügend Rezeptorplätze zu belegen.

Allerdings spielt dies therapeutisch nur eine untergeordnete Rolle, da für eine Behandlung eine hohe Aktivität des Therapienuklids benötigt wird, was sich zwangsläufig auch in einer höheren benötigten Peptidmenge manifestiert. So benötigt man für die Komplexierung von 8 GBq Lu-177 mindestens 15,6 µg DOTATOC (siehe Kapitel 3.2).

Generell lassen sich die Ergebnisse eines in vivo-Versuchs nicht unmittelbar auf die Wirkung in vitro übertragen. Jedoch kann man den Rezeptorbesatz auch in vitro mit einer Adsorptionsisotherme nach Langmuir vergleichen und so die in vivo-Ergebnisse zwar nicht validieren, aber die zugrunde liegende Annahme, dass eine erhöhte Peptidmenge den Uptake negativ beeinflusst durchaus bestätigen.

Außerdem spielt es eine große Rolle, welche Organe oder Strukturen im Körper betrachtet werden, um den Uptake in eben diesem Gewebe zu vergleichen. Es sind hier sst2-positive und sst2-negative Gewebe unterscheiden. Zu den sst2-positiven Geweben zählen in erster Linie das Tumorgewebe, allerdings auch die Nebennieren, die Bauchspeicheldrüse, die Hirnanhangdrüse und der Magen (de Jong, et al., 1999). Zu den sst2-negativen Organen zählt unter anderem auch das Risikoorgan Niere (Müller, et al., 2007) (de Jong, et al., 1999). Diese Arbeiten zeigen, dass die Peptidkonzentration nur einen Einfluss auf die sst2-positiven Organe hat, der Einfluss auf die sst2-negativen Organe ist marginal.

Dies wiederum bekräftigt nochmals das Ergebnis dieser Arbeit, dass die eingesetzte Peptidkonzentration bei einer PRRT einen großen Stellenwert bei der Planung der Therapie besitzen sollte. Denn der große Einfluss der Peptidkonzentration auf den Uptake in sst2-positiven Organen und der geringe Einfluss auf die sst2-negativen Organe zeigen, dass man die Tumordosis (selbstverständlich dann sämtliche Dosen, welche in sst2-positiven Organen deponiert werden) durch Senkung der Peptidkonzentration erhöhen könnte. Die Nierendosis würde sich jedoch nicht im selben Maße ändern, wie die Dosis in den sst2-positiven Organen.

Der Vergleich der Uptakeversuche mit Cu-64 DOTATOC und Lu-177 DOTATOC zeigt außerdem einen deutlich geringeren Einfluss auf den

Uptake in der Versuchsreihe mit Cu-64 DOTATOC. Auch dies ist nicht weiter verwunderlich, da, wie in Kapitel 3.3.3 dargestellt, der Anteil an markiertem Peptid deutlich geringer ist, als bei Lu-177 DOTATOC. Daher ist auch die Konkurrenz am Rezeptor bei Cu-64 DOTATOC höher, als dies bei Lu-177 DOTATOC der Fall wäre. Trotzdem ist der Einfluss der Peptidkonzentration auch in dieser Versuchsreihe zu erkennen.

Letztlich wäre auch Cu-64 NODAGANOC ein besser geeignetes Peptid für die Komplexierung von Cu-64, da Cu-64, als Cu^{2+} , im DOTA-Ring in vitro zu Cu^+ reduziert wird und so der Komplex nicht mehr stabil ist und das Nuklid aus dem Komplex eliminiert wird. Wird allerdings NODAGA als Chelator verwendet, wird das Cu^{2+} Ion nicht reduziert und der Komplex bleibt stabil. (Ghosh, et al., 2015) In dieser Arbeit wurde das Peptid DOTATOC für die Komplexierung von Cu-64 verwendet, um eine Vergleichbarkeit mit der Versuchsreihe von Lu-177 DOTATOC zu erzielen.

Abschließend kann gesagt werden, dass die Lu-177 DOTATOC-Synthese deutlich vereinfacht werden konnte, so muss zukünftig kein Puffer mehr angesetzt und der pH-Wert eingestellt, sondern nur noch die benötigte Menge Natriumacetat eingewogen und aufgelöst werden. Auch die Peptidmenge konnte reduziert werden, was eine deutliche Kostenersparnis mit sich bringt. Durch die neue Synthesevorschrift und die Möglichkeit einer deutlichen Peptidreduktion bei der Synthese besteht die Option, dass man zukünftig den Therapien mehr Individualität verleiht. So besteht die Aussicht, gezielter Dosis im Tumor zu deponieren und dabei gesundes Gewebe potentiell zu schonen.

Mit der exemplarischen Auswertung der planaren Ganzkörperszintigrafien mittels des Krenningscores konnten keine Unterschiede in der Aufnahme des Radiopharmakons festgestellt werden. Möglicherweise ist aber das gewählte Instrument nicht selektiv genug, um die eventuellen unterschiedlichen Aufnahmemengen an radioaktivem DOTATOC ausreichend zu visualisieren. Es würde also ein Verfahren benötigt, welches eine bessere Quantifizierung ermöglicht. Außerdem spielen bei der Verteilung auch Tumorlast und Tumorstadium eine wichtige Rolle, daher sollte man bei weiteren

Auswertungen, eventuell auch mittels einer Dosimetrie, die Anzahl an ausgewerteten Szintigrafien erhöhen, um eine bessere Aussagekraft zu erhalten.

Was sich allerdings auch deutlich zeigt ist, dass bei einer Reduktion der Peptidmenge, die Aufnahme an Lu-177 DOTATOC nicht gehemmt wird. Somit vermindert sich, zumindest nach der Auswertung der Szintigrafien anhand der Krenning-Skala, nicht die Wirksamkeit der Lu-177 DOTATOC Therapie und das bei sinkenden Kosten durch den geringeren Peptideinsatz.

4 Ausblick

In weiteren Untersuchungen sollte der Zusammenhang zwischen deponierter Dosis in den Nieren, sowie den anderen Risikoorganen und der deponierten Dosis im Tumor im Hinblick auf variable Peptidmengen, genauer beleuchtet werden.

So wird eindeutig gezeigt, dass die Tumordosis bei kleiner werdender Peptidmenge und gleichbleibender Aktivität steigt. Möchte man nun eine gewünschte Zieldosis im Tumor erreichen, würde diese mit einer geringeren Peptidmenge bei einer geringeren Aktivität erreicht werden.

Dies bedeutet, dass bei einer geringeren Peptidmenge und bei einer geringeren Aktivität, sich die Dosis in den sst2-negativen Organen reduzieren müsste, wobei die Dosis in den sst2-positiven Organen gleichbleibt. Die Nieren würden somit effizienter geschont werden und außerdem wären die Kosten der Therapie geringer, da weniger Aktivität und weniger Peptid für das gleiche Ergebnis zum Einsatz kämen.

Zwar ergeben sich aus der Auswertung der planaren Ganzkörperszintigrafien anhand der Krenning-Skala keine auffälligen Unterschiede zwischen den Therapien mit einem Einsatz von 240 µg DOTATOC und 40 µg DOTATOC. Jedoch ist das Verfahren nach Krenning eventuell nicht sensitiv genug um die Unterschiede, welche im Zellversuch gezeigt wurden, zu belegen. In weiteren Forschungsarbeiten sollte eine größere Anzahl an Szintigrafien mittels Region of Interest-Auswertung analysiert werden, um eventuelle Unterschiede besser vergleichbar zu machen. Jedoch konnte mittels der hier gewonnenen Erkenntnisse eindeutig gezeigt werden, dass die Synthese mit 40 µg DOTATOC und 8 GBq Lu-177 n.c.a. zu einer ebenso guten Syntheseausbeute führt, wie das mit mehr Peptid der Fall gewesen war. Dadurch dass auch nicht geträgertes Lutetium zum Einsatz kam, wurde auch die Schwermetallbelastung des Patienten verringert, da deutlich weniger Lutetium im Lu-177 n.c.a. vorhanden ist.

Auch die Wirkung der gebräuchlichsten Infusionen zum Nierenschutz, wie eine Mischung aus den Aminosäuren Lysin und Arginin oder Polyglutaminsäuren (Béhé, Kluge, Becker, Gotthardt, & Behr, 2005) (Rolleman, Valkema, de Jong,

Kooij, & Krenning, 2003) müsste in diesem Zusammenhang wieder überprüft werden. Denn durch die geringere Peptidmenge könnte es hier zu anderen Wirkungen kommen.

Es lassen sich auch noch andere potentiellen Ansätze finden, wie man die gewonnenen Erkenntnisse dieser Arbeit umsetzen könnte. So besteht die Möglichkeit, dass ein Patient einen stark DOTATOC speichernden Tumor aufweist. Injiziert man diesem Patienten nun eine gewisse Menge an nicht radioaktiv markiertem DOTATOC, so könnten die sst2-positiven, sowie auch negativen Organe, mit Ausnahme des Tumors, da dieser stark speichernd ist, zu einem gewissen Teil abgesättigt werden. Das würde bedeuten, dass bei der eigentlichen Injektion des markierten Peptids, ein noch größerer Teil tatsächlich im Tumor und nicht in den anderen Organen gebunden wird. (Velikyan, et al., 2010)

Ob dieser Ansatz auch in vivo funktioniert, müsste anhand geeigneter dosimetrischer Untersuchungen gezeigt werden.

Darauf aufbauend könnten verstärkt Anwendungen von Alphastrahlern wie Bi-213 in der DOTATOC-Therapie erfolgen (Bi-213 ist ein Betastrahler, zerfällt jedoch zu Po-213, welches ein Alphastrahler ist). Wie oben beschrieben ließen sich eventuell die Risikoorgane mit DOTATOC absättigen, sodass in diesen weniger Dosis deponiert wird. Der Vorteil einer Therapie mit Alphastrahlern liegt darin, dass mit ihnen eine sehr viel höhere Dosis mit geringerer Aktivität deponiert werden kann. Der Lineare Energie Transfer (LET) für Alphastrahler liegt um ein Vielfaches höher als der LET für Betastrahler. Somit deponiert der Alphastrahler seine Dosis auf einer viel kürzeren Wegstrecke als dies ein Betastrahler macht. Das kann das gesunde Gewebe schonen, wenn der Alphastrahler nur im Tumorgewebe aufgenommen wird. Aber der höhere LET wirkt ebenso in gesunden Geweben, das bedeutet dass auch in anderen Organen eine größere Dosis deponiert werden kann. Der Schutz der Risikoorgane ist also bei einer Therapie mit Alphastrahlern äußerst wichtig. (Graf, et al., 2014)

Eine Möglichkeit gesundes Gewebe zu schonen, könnte die intraarterielle Gabe des Radiopharmakons sein. Dies ist vor allem bei Patienten mit

Lebermetastasen interessant, denn bei intraarterieller Applikation gelangt das markierte Peptid zuerst in die Leber, bevor es sich dann im Körper verteilt. Bei diesem „First-Pass-Effekt“ wird also schon DOTATOC an die Rezeptoren gebunden, welches dann keine Dosis mehr in den anderen Organen (wie der Niere) deponieren kann. Im Vergleich zur intravenösen Gabe, bei der das Peptid erst durch den gesamten Körper zirkuliert bevor es die Leber erreicht, könnte hier also auch ein gesteigertes Tumor- zu Hintergrundverhältnis erreicht werden, wie es Kratochwil, et. al. beschreiben. (Kratochwil, et al., 2014)

5 Literaturverzeichnis

- Albert, R., Smith-Jones, P., Stolz, B., Simeon, C., Knecht, H., Bruns, C., et al. (Mai 1998). Direct Synthesis of [DOTA-DPhe1]-Octreotide and [DOTA-DPhe1,Tyr3]-Octreotide (SMT-487): Two Conjugates for Systemic Delivery of Radiotherapeutical Nuclides to Somatostatin Receptor Positive Tumors in Man. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (8), S. 1207-1210.
- Al-Nahhas, A., & Fanti, S. (März 2012). Radiolabelled peptides in diagnosis and therapy: an introduction. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (39), S. S1-S3.
- Ambrosini, V., Castellucci, P., Rubello, D., Nanni, C., Musto, A., Allegri, V., et al. (April 2009). 68Ga-DOTA-NOC: a new PET tracer for evaluating patients with bronchial carcinoid. *Nuclear Medicine Communications* (30), S. 281-286.
- Ambrosini, V., Fani, M., Fanti, S., Ferrer, F., & Mäcke, H. R. (Dezember 2011). Radiopeptide Imaging and Therapy in Europe. *The Journal of Nuclear Medicine* (52), S. 42S-55S.
- Ambrosini, V., Tomassetti, P., Castellucci, P., Campana, D., Montini, G., Rubello, D., et al. (August 2008). Comparison between 68Ga-DOTA-NOC and 18F-DOPA PET for the detection of gastro-entero-pancreatic and lung neuro-endocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (35), S. 1431-1438.
- Baum, R. P., Kulkarni, H., Schorr-Neufing, U., Niepsch, K., Bitterlich, N., & van Echteld, C. J. (Februar 2016). [177Lu-DOTA]0-D-Phe1-Tyr3-Octreotide (177Lu-DOTA TOC) For Peptide Receptor Radiotherapy in Patients with Advanced Neuroendocrine Tumours: A Phase-II Study. *Theranostics* (6), S. 501-510.
- Been, L. B., Suurmeijer, A. J., Cobben, D. C., Jager, P. L., Hoekstra, H. J., & Elsinga, P. H. (Dezember 2004). [18F]FLT-PET in oncology: current status and opportunities. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (31), S. 1659-1672.
- Behé, M. (2012). Synthese von Lu-177 DOTATOC. Marburg: Klinik für Nuklearmedizin.

- Béhé, M., Kluge, G., Becker, W., Gotthardt, M., & Behr, T. M. (Juni 2005). Use of Polyglutamic Acids to Reduce Uptake of Radiometal-Labeled Minigastrin in the Kidneys. *The Journal of Nuclear Medicine* (46), S. 1012-1015.
- Behr, T. M., Kann, P. H., Gotthardt, M., Béhé, M., & Arnold, R. (Juni 2003). Nuklearmedizinische Diagnostik und Therapie neuroendokriner Tumoren des Gastrointestinaltraktes einschließlich des Karzinoides. *Der Nuklearmediziner* (26), S. 121-133.
- Behr, T., Arnold, R., & Wied, M. (Juni 2002). Somatostatin analogues in the treatment of endocrine tumours of the gastrointestinal tract. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* (3), S. 643-656.
- Bernhardt, P., Kölby, L., Johanson, V., Nilsson, O., Ahlman, H., & Forssell-Aronsson, E. (April 2003). Biodistribution of ¹¹¹In-DTPA-D-Phe1-octreotide in tumor-bearing nude mice: influence of amount injected and route of administration. *Nuclear Medicine and Biology* (30), S. 253-260.
- Bodei, L., Mueller-Brand, J., Pavel, M. E., Baum, R. P., Hörsch, D., & Zankun, J. J. (Mai 2013). The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) in neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (40), S. 800-816.
- Bogdanov Jr., A. A., & Licha, K. (2005). *Molecular Imaging - An Essential Tool in Preclinical Research, Diagnostic Imaging, and Therapy*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Breeman, W. A., de Blois, E., Chan, H. S., Konijnenberg, M., Kwekkeboom, D. J., & Krenning, E. P. (Juli 2011). ⁶⁸Ga-labeled DOTA-Peptides and ⁶⁸Ga-labeled Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography: Current Status of Research, Clinical Applications, and Future Perspectives. *Seminars in Nuclear Medicine* (41), S. 314-321.
- Breeman, W. A., de Jong, M., Visser, T. J., Erion, J. L., & Krenning, E. P. (Juni 2003). Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with ⁹⁰Y, ¹¹¹In and ¹⁷⁷Lu at high specific activities. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (30), S. 917-920.
- Breeman, W. A., Kwekkeboom, D. J., Kooij, P. P., Bakker, W. H., Hofland, L. J., Visser, T. J., et al. (April 1995). Effect of Dose and Specific Activity on

- Tissue Distribution of Indium-111-Pentetreotide in Rats. *The Journal of Nuclear Medicine* (36), S. 623-627.
- Caime, F. (2010). *Entwicklung Radiometall-markierter Somatostatin-Analoga Internalisierungsversuche mit DOTA- β -Ala-TOC an der Hamsterglucagonomzelllinie INR1-G9*. Marburg: Dissertation, Philipps-Universität Marburg.
- Chen, W., Cloughesy, T., Kamdar, N., Satyamurthy, N., Bergsneider, M., Liao, L., et al. (Juni 2005). Imaging Proliferation in Brain Tumors with 18F-FLT: Comparison with 18F-FDG. *The Journal of Nuclear Medicine* (46), S. 945-952.
- Cihlo, J., Melicharová, L., Petrik, M., Laznickova, A., & Laznicek, M. (Juli/August 2008). Comparison of 111In-DOTA-NOC and 111In-DOTA-TATE Distribution in the Target and Dose-limiting Tissues: Conflicting Results In Vitro and In Vivo. *Anticancer Research* (28), S. 2189-2196.
- de Herder, W. W., Kwekkeboom, D. J., Feelders, R. A., van Aken, M. O., Lamberts, S. W., van der Lely, A.-J., et al. (September 2006). Somatostatin receptor imaging for neuroendocrine tumors. *Pituitary*, S. 243-248.
- de Jong, M., Bakker, W. H., Krenning, E. P., Breeman, W. A., van der Pluijm, M. E., Bernard, B. F., et al. (April 1997). Yttrium-90 and indium-111 labelling, receptor binding and biodistribution of [DOTA0,D-Phe1,Tyr3]octreotide, a promising somatostatin analogue for radionuclide therapy. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (24), S. 368-371.
- de Jong, M., Breeman, W. A., Bernard, B. F., van Gameren, A., de Bruin, E., Bakker, W. H., et al. (Juli 1999). Tumour uptake of the radiolabelled somatostatin analogue [DOTA0,TYR3]octreotide is dependent on the peptide amount. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (26), S. 693-698.
- de Jong, M., Valkema, R., Jamar, F., Kvols, L. K., Kwekkeboom, D. J., Breeman, W. A., et al. (April 2012). Somatostatin Receptor-Targeted Radionuclide Therapy of Tumors: Preclinical and Clinical Findings. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (32), S. 133-140.

- Esser, J. P., Krenning, E. P., Teunissen, J. J., Kooij, P. P., van Gameren, A. L., Bakker, W. H., et al. (November 2006). Comparison of [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate and [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotide: which peptide is preferable for PRRT? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (33), S. 1346-1351.
- Forrer, F., Uusijärvi, H., Waldherr, C., Cremonesi, M., Bernhardt, P., Müller-Brand, J., et al. (September 2004). A comparison of 111In-DOTATOC and 111In-DOTATATE: biodistribution and dosimetry in the same patients with metastatic neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (31), S. 1257-1262.
- Forrer, F., Valkema, R., Kwekkeboom, D. J., de Jong, M., & Krenning, E. P. (Januar 2007). Peptide receptor radionuclide therapy. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* (21), S. 111-129.
- Gabriel, M., Decristoforo, C., Kendler, D., Dobrozemsky, G., Heute, D., Uprimny, C., et al. (April 2007). 68Ga-DOTA-Tyr3-Octreotide PET in Neuroendocrine Tumors: Comparison with Somatostatin Receptor Scintigraphy and CT. *The Journal of Nuclear Medicine* (48), S. 508-518.
- Ghosh, S. C., Pinkston, K. L., Robinson, H., Hervay, B. R., Wilgansowski, N., Gore, K., et al. (Februar 2015). Comparison of DOTA and NODAGA as chelators für 64Cu-labeled immunoconjugates. *Nuclear Medicine and Biology* (42), S. 177-183.
- Gonzalez, A., Santofimia-Castaño, P., & Salido, G. M. (5. Juli 2011). *Culture of pancreatic AR42J cell for use as a model for acinar cell function*. Abgerufen am 28. 12 2015 von <http://www.pancreapedia.org/tools/methods/culture-of-pancreatic-ar42j-cell-for-use-as-model-for-acinar-cell-function>
- Graf, F., Fahrer, J., Maus, S., Morgenstern, A., Bruchertseifer, F., Venkatachalam, S., et al. (Februar 2014). DNA Double Strand Breaks as Predictor of Efficacy of the Alpha-Particle Emitter Ac-225 and the Electron Emitter Lu-177 for Somatostatin Receptor Targeted Radiotherapy. *Plos One* (9), S. 1-10.
- Hofman, M. S., Kong, G., Neels, O. C., Eu, P., Hong, E., & Hicks, R. J. (Februar 2012). High management impact of Ga-68 DOTATATE (GaTate) PET/CT

- for imaging neuroendocrine and other somatostatin expressing tumours. *Journal of Medical Imaging and Radiation Oncology* (56), S. 40-47.
- Hofman, M. S., Lau, W. F., & Hicks, R. J. (März-April 2015). Somatostatin Receptor Imaging with 68Ga DOTATATE PET/CT: Clinical Utility, Normal Patterns, Pearls, and Pitfalls in Interpretation. *Radiographics* (32), S. 500-516.
- Hoyer, D., Bell, G. I., Berelowitz, M., Epelbaum, J., Fenuik, W., Humphrey, P. P., et al. (März 1995). Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* (16), S. 86-88.
- Huber, C. G., & Kohlmann, H. (2007). *Skript zur Vorlesung An01 - Grundlagen der Analytischen Chemie, Teil A*. Saarbrücken: Universität des Saarlandes.
- IDB. (2016). *Product characteristics of Lu-177*. Abgerufen am 02. 06 2016 von <http://www.idb-holland.com/lutetium-177/lutetium-177-specifications/>
- ITG. (August 2013). Data Sheet of Lu-177 n. c. a. Garching, Bayern.
- Ivančevi, V., Wörmann, B., Nauck, C., Sandrock, D., Munz, D. L., Hiddemann, W., et al. (Januar-Februar 1997). Somatostatin receptor scintigraphy in the staging of lymphomas. *Leukemia & Lymphoma* (26), S. 107-114.
- Kam, B. L., Teunissen, J. J., Krenning, E. P., de Herder, W. W., Khan, S., van Vliet, E. I., et al. (Februar 2012). Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (39), S. 103-112.
- Kletting, P., Müller, B., Erentok, B., Schmaljohann, J., Behrendt, F. F., Mottaghy, F. M., et al. (September 2012). Differences in predicted and actually absorbed doses in peptide receptor radionuclide therapy. *Medical Physics* (39), S. 5708-5717.
- Kohlmann, H. (2009). *Skript zur Vorlesung An03 - Elementanalytik*. Saarbrücken: Universität des Saarlandes.
- Kohlmann, H., & Huber, C. G. (2007). *Skript zur Vorlesung An01 - Grundlagen der Analytischen Chemie, Teil B*. Saarbrücken: Universität des Saarlandes.
- Kratochwil, C., Giesel, F. L., Bruchertseifer, F., Mier, W., Apostolidis, C., Boll, R., et al. (November 2014). 213Bi-DOTATOC receptor-targeted alpha-radionuclide therapy induces remission in neuroendocrine tumours

- refractory to beta radiation: a first-in-human experience. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (41), S. 2106-2119.
- Krieger, H. (2013). *Strahlungsmessung und Dosimetrie*. Wiesbaden: Springer Spektrum.
- Kwekkeboom, D. J., & Krenning, E. P. (April 2002). Somatostatin Receptor Imaging. *Seminars in Nuclear Medicine* (32), S. 84-91.
- Kwekkeboom, D. J., Bakker, W. H., Kooij, P. P., Konijnenberg, M. W., Srinivasan, A., Erion, J. L., et al. (September 2001). [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate: comparison with [111In-DTPA0]octreotide in patients. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (28), S. 1319-1325.
- Kwekkeboom, D. J., Kam, B. L., van Essen, M., Teunissen, J. J., van Eijck, C. H., Valkema, R., et al. (Januar 2010). Somatostatin receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine-Related Cancer* (17), S. 53-73.
- Kwekkeboom, D. J., Müller-Brand, J., Paganelli, G., Lowel, A. B., Pauwels, S., Kvols, L. K., et al. (Januar 2005). Overview of Results of Peptide Receptor Radionuclide Therapy with 3 Radiolabeled Somatostatin Analogs. *The Journal of Nuclear Medicine* (46), S. 62-66.
- Kwekkeboom, D., Krenning, E. P., & de Jong, M. (October 2000). Peptide Receptor Imaging and Therapy. *The Journal of Nuclear Medicine* (41), S. 1704-1713.
- Lamberts, S. W., Bakker, W. H., Reubi, J.-C., & Krenning, E. P. (November 1990). Somatostatin-Receptor Imaging in the Localization of Endocrine Tumors. *The new England Journal of Medicine* (323), S. 1246-1249.
- Mäcke, H., & Reubi, J. C. (Juni 2011). Somatostatin Receptors as Targets for Nuclear Medicine Imaging and Radionuclide Treatment. *The Journal of Nuclear Medicine* (52), S. 841-844.
- Magill, J., Pfennig, G., Dreher, R., & Söti, Z. (2012). *Karlsruher Nuklidkarte* (8. Ausg.). Eggenstein-Leopoldshafen: Nucleonica GmbH.
- Martin, M. (2008). *Skript zur Vorlesung An02 - Instrumentelle Analytik - Chromatographische Trennverfahren*. Saarbrücken: Universität des Saarlandes.
- Martin, M. (2008). *Skript zur Vorlesung An02 - Instrumentelle Analytik - Statistik zur Datenauswertung*. Saarbrücken: Universität des Saarlandes.

- Müller, C., Forrer, F., Bernard, B. F., Melis, M., Konijnenberg, M., Krenning, E. P., et al. (Januar 2007). Diagnostic Versus Therapeutic Doses of [177Lu-DOTA-Tyr3]-Octreotate: Uptake and Dosimetry in Somatostatin Receptor-Positive Tumors and Normal Organs. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* (22), S. 151-159.
- Otte, A., Jermann, E., Behe, M., Goetze, M., Bucher, H. C., Roser, H. W., et al. (Juli 1997). DOTATOC: a powerful new tool for receptor-mediated radionuclide therapy. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (24), S. 792-795.
- Patel, Y. C. (Juli 1999). Somatostatin and its Receptor Family. *Frontiers in Neuroendocrinology* (20), S. 157-198.
- Patel, Y. C., Greenwood, M. T., Panetta, R., Demchyshyn, L., Niznik, H., & Srikant, C. B. (August 1995). The Somatostatin Receptor Family. *Life Sciences* (57), S. 1249-1265.
- Paul, R. L., Ballinger, J., Blower, P. J., Marsden, P. K., Trivett A, A., Lloyd, D., et al. (kein Datum). *Production of Cu-64 and Synthesis and Biological Evaluation of 64CuATSM and second generation analogues*. Abgerufen am 12. 04 2016 von http://www.rsc.org/images/rowena_paul_tcm18-104083.pdf
- Pettinato, C., Sarnelli, A., di Donna, M., Civollani, S., Nanni, C., Montini, G., et al. (Januar 2008). 68Ga-DOTANOC: biodistribution and dosimetry in patients affected by neuroendocrine tumors. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (51), S. 72-79.
- Pfestroff, A. (2004). *Etablierung eines humanen Modelsystems zur funktionellen Analyse der Somatostatin-Rezeptor-Subtypen 2 und 5 in der humanen, neuroendokrinen Kolon-Karzinom Zelllinie LCC-18*. Marburg: Dissertation, Philipps-Universität Marburg.
- Pfestroff, A. (März 2015). Somatostatinrezeptorszintigrafie. *Der Nuklearmediziner* (38), S. 56-61.
- Poepfel, T. D., Binse, I., Petersenn, S., Lahner, H., Schott, M., Antoch, G., et al. (Dezember 2011). 68Ga-DOTATOC Versus 68Ga-DOTATATE PET/CT in Functional Imaging of Neuroendocrine Tumors. *The Journal of Nuclear Medicine* (52), S. 1864-1870.

- Rausch, R. (2016). *pKs Werte*. Abgerufen am 02. 06 2016 von <http://www.periodensystem-online.de/index.php?sel=wertdesc&prop=pKs-Werte&show=list&id=acid>
- Reubi, J.-C. (August 2003). Peptide Receptors as Molecular Targets for Cancer Diagnosis and Therapy. *Endocrine Reviews* (24), S. 389-427.
- Reubi, J.-C., Schaer, J.-C., Markwalder, R., Waser, B., Horisberger, U., & Laissue, J. (September-Dezember 1997). Distribution of Somatostatin Receptors in Normal and Neoplastic Human Tissues: Recent Advances and Potential Relevance. *Yale Journal of Biology and Medicine* (70), S. 471-479.
- Reubi, J.-C., Schär, J.-C., Waser, B., Wenger, S., Heppeler, A., Schmitt, J. S., et al. (März 2000). Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (27), S. 273-282.
- Reubi, J.-C., Waser, B., Schaer, J.-C., & Laissue, J. A. (Juli 2001). Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (28), S. 836-846.
- Rinke, A., & Arnold, R. (Januar-Februar 2014). Aktuelle Therapie neuroendokriner Tumoren. *Arzneimitteltherapie*, S. 2-13.
- Rinke, A., Müller, H.-H., Schade-Brittinger, C., Klose, K.-J., Barth, P., Wied, M., et al. (Oktober 2009). Placebo-Controlled, Double-Blind, Prospective Randomized Study on the Effect of Octreotide LAR in the Control of Tumor Growth in Patients With Metastatic Neuroendocrine Midgut Tumors: A Report From the PROMID Study Group. *Journal of Clinical Oncology* (27), S. 4656-4663.
- Rolleman, E. J., Valkema, R., de Jong, M., Kooij, P. P., & Krenning, E. P. (Januar 2003). Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (30), S. 9-15.
- Schottelius, M., & Wester, H.-J. (Juni 2009). Molecular imaging targeting peptide receptors. *Methods* (48), S. 161-177.

- Topp, T. (2008). *In Vitro Evaluation der Kombination von Radiopeptid- und Chemotherapie bei der Behandlung neuroendokriner Tumoren*. Marburg: Dissertation, Philipps-Universität Marburg.
- Velikyan, I. (Januar 2014). Prospective of ⁶⁸Ga-Radiopharmaceutical Development. *Theranostics* (4), S. 47-80.
- Velikyan, I., Beyer, G. J., Bergström-Pettermann, E., Johansen, P., Bergström, M., & Långström, B. (Juli 2008). The importance of high specific radioactivity in the performance of ⁶⁸Ga-labeled peptide. *Nuclear Medicine and Biology* (35), S. 529-536.
- Velikyan, I., Sundin, A., Eriksson, B., Lundqvist, H., Sörensen, J., Berström, M., et al. (April 2010). In vivo binding of [⁶⁸Ga]-DOTATOC to somatostatin receptors in neuroendocrine tumours – impact of peptide mass. *Nuclear Medicine and Biology* (37), S. 265-275.
- Waldherr, C., Pless, M., Mäcke, H. R., Schumacher, T., Crazzolara, A., Nitzsche, E. U., et al. (Mai 2002). Tumor Response and Clinical Benefit in Neuroendocrine Tumors After 7.4 GBq ⁹⁰Y-DOTATOC. *The Journal of Nuclear Medicine* (43), S. 610-616.
- Wehrmann, C., Senftleben, S., Zachert, C., Müller, D., & Baum, R. P. (Juli 2007). Results of Individual Patient Dosimetry in Peptide Receptor Radionuclide Therapy with ¹⁷⁷Lu DOTA-TATE and ¹⁷⁷Lu DOTA-NOC. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* (22), S. 406-416.
- Wild, D., Bomanji, J. B., Benkert, P., Mäcke, H., Ell, P. J., Reubi, J.-C., et al. (März 2013). Comparison of ⁶⁸Ga-DOTANOC and ⁶⁸Ga-DOTATATE PET/CT Within Patients with Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *The Journal of Nuclear Medicine* (54), S. 364-372.
- Wild, D., Schmitt, J. S., Ginj, M., Mäcke, H. R., Bernard, B. F., Krenning, E., et al. (Oktober 2003). DOTA-NOC, a high-affinity ligand of somatostatin receptor subtypes 2, 3 and 5 for labelling with various radiometals. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (30), S. 1338-1347.
- Wollersheim, H.-J. (27. Juli 2000). *Alpha, Beta und Gamma-Detektoren*. Abgerufen am 14. April 2016 von <https://web-docs.gsi.de/~wolle/Schuelerlabor/detektoren.html>

6 Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturen und Unterschiede der gebräuchlichsten Somatostatinanaloga, hier markiert mit Gallium. (Velikyan, 2014).....	10
Abbildung 2: Aufbau eines HPLC Systems. (Martin, 2008)	15
Abbildung 3: Struktur und Funktionalisierung von Kieselgel. (Martin, 2008)	16
Abbildung 4: Aufbau und Anschluss einer HPLC Säule. (Martin, 2008)	17
Abbildung 5: Aufbau und Funktionsweise einer Probenschleife. (Martin, 2008)	18
Abbildung 6: Beispielchromatogramm für die Trennung verschiedener Phenole auf einer RP18 Säule. (Martin, 2008).....	19
Abbildung 7: Aufbau eines UV-Vis Detektors. (Martin, 2008)	20
Abbildung 8: Aufbau eines NaI(Tl)-Szintillationsdetektors. (Krieger, 2013)	22
Abbildung 9: Aufbau eines SEV. (Krieger, 2013).....	23
Abbildung 10: Darstellung einer Langmuir Adsorptionsisothermen. (Kohlmann & Huber, 2007)	25
Abbildung 11: HPLC Probe mit ausschließlich freiem Lutetium-177.	30
Abbildung 12: HPLC Probe mit 8 GBq Lutetium-177 und 20 µg DOTATOC. ...	30
Abbildung 13: Ergebnisse der Uptakebestimmung ohne Block.	34
Abbildung 14: Ergebnisse der Uptakebestimmung mit Block.	35
Abbildung 15: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 2,5 ng pro MBq.	35
Abbildung 16: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 3,75 ng pro MBq.	35
Abbildung 17: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 5,0 ng pro MBq.	36
Abbildung 18: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 12,5 ng pro MBq.	36
Abbildung 19: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq.	36

Abbildung 20: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im	
Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq ohne Block.	38
Abbildung 21: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im	
Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq mit Block.	39
Abbildung 22: Langmuir Adsorptionsisotherme. (Kohlmann & Huber, 2007) ...	40
Abbildung 23: Ergebnisse der Uptakebestimmung ohne Block.	42
Abbildung 24: Ergebnisse der Uptakebestimmung mit Block.	42
Abbildung 25: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration	
von 5,0 ng pro MBq.	43
Abbildung 26: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration	
von 15 ng pro MBq.	43
Abbildung 27: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration	
von 25 ng pro MBq.	43
Abbildung 28: Uptakebestimmung mit einer Peptidkonzentration	
von 50 ng pro MBq.	43
Abbildung 29: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im	
Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq ohne Block.	45
Abbildung 30: Faktoren der Erhöhung des Uptakes im	
Vergleich zu einer Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq mit Block.	46
Abbildung 31: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.....	47
Abbildung 32: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.....	47
Abbildung 33: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.....	47
Abbildung 34: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.	49
Abbildung 35: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.	49
Abbildung 36: Vergleich der Uptakeversuche von.....	
Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.	50
Abbildung 37: Ganzkörperszintigramm mit guter.....	
Speicherung in den Metastasen.	51
Abbildung 38: Ganzkörperszintigramm mit schlechter	

Speicherung in den Metastasen.....	52
------------------------------------	----

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Lu-177 DOTATOC.	33
Tabelle 2: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Lu-177 DOTATOC und 200-fachem Überschuss an DOTATOC als Block.....	33
Tabelle 3: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq für die Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC ohne Block. ...	37
Tabelle 4: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 25,7 ng pro MBq für die Bestimmung mit Lu-177 DOTATOC mit Block. ...	37
Tabelle 5: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Cu-64 DOTATOC.....	41
Tabelle 6: Ergebnisse der Uptakeversuche mit Cu-64 DOTATOC und 200-fachem Überschuss an DOTATOC als Block.....	41
Tabelle 7: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq für die Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC ohne Block... ..	44
Tabelle 8: Erhöhung des Uptakes im Vergleich zu der Peptidkonzentration von 50,0 ng pro MBq für die Bestimmung mit Cu-64 DOTATOC mit Block.....	44
Tabelle 9: Vergleich des markierten Anteils an DOTATOC von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC ohne Block.....	49
Tabelle 10: Vergleich des markierten Anteils an DOTATOC von Lu-177 DOTATOC und Cu-64 DOTATOC mit Block.	50
Tabelle 11: Summe der Krenningscores aus den 10 Ganzkörperszinigraphien der Jahre 2012 und 2016.....	52

6.3 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren in

Saarbrücken:

Bernhardt, Deicher, Gekeler, Grigoryan, Hegetschweiler, Heinzle, Hempelmann, Huber, Jauch, Jung, Kazmaier, Kickelbick, Knorr, Kohlmann, Martin, Mavrov, Natter, Seemann, Speicher, Springborg, Stucky, Stöwe, Veith, Völzing, Wenz

Marburg:

Dehnen, Greiner, Hampp, Harbrecht, Hilt, Jungclas, Luster, Noll, Pfestroff, Pilgrim, Pyell, Schäfer, Seubert, Sundermeyer, Roling, Tallarek, Weitzel

6.4 Danksagung

Ich danke

Herrn Prof. Dr. Hartmut Jungclas für die Übernahme der Erstkorrektur.

Herrn Dr. Andreas Pfestroff für die Betreuung und hilfreichen Anmerkungen meiner Promotion.

Herrn Prof Dr. Florian Kraus für die Bereitschaft der Übernahme der Zweitkorrektur.

Frau Birgit Herbst-Brück und Frau Ulla Cramer für die Hilfe bei der Einarbeitung in die Zellkultur.

der gesamten Klinik für Nuklearmedizin für die angenehme und freundliche Atmosphäre und das gute Miteinander.

meiner Frau Dorothée Fellingner, welche mich in allen Lebenslagen unterstützt.